平成21年10月1日発行　年4回発行
ISSN 1345-9147

LABIO 21

Japanese Society for Laboratory Animal Resources

社団法人 日本実験動物協会
Tel. 03-5215-2231　Fax. 03-5215-2232
http://www.nichidokyo.or.jp/　E-mail: jsla@nichidokyo.or.jp

【特集】
「マウスノロウイルスの状況と研究」

【研究最前線】
「遺伝子改変霊長類作出」

わたしたちにできること

ライフサイエンスの発展に貢献する実験動物を・・・

日本チャールス・リバー株式会社は、創業時の基本理念
「科学の知識に基づいた実験動物の生産・供給」に基づき、
世界のスタンダードとなる高品質SPF/VAF実験動物を安定供給し、
ライフサイエンスの発展を応援しています（VAF：Virus Antibody Free）。
※1995年、ISO9002シリーズ認証取得。

絵　山本容子
画家。
犬を中心とした作品づくりで40年近くなる。
犬を擬人化した作品で国内、国外に多くのファンをもつ。
1981年より(社)ジャパンケンネルクラブ会報「家庭犬」の表紙画を担当。
1986年アメリカンドッグアソシエーション特別賞を受賞。
1992年農林水産大臣賞を受賞。
1996年以後、東京、大阪を中心に個展・展示会を開催。

目　次

巻頭言

生命科学と実験動物技術者の役割

東京大学大学院農学生命科学研究科
教授　吉川泰弘

21世紀はなぜ生命科学なのか？

なぜ21世紀が「生命科学の世紀」といわれるか？それは、丁度科学がある種のターニングポイントに来ているためであろうと思います。「普遍性」「唯一性」「再現性」という、ここ200〜300年に近代科学がめざしてきたものから、徐々に「個別性」「多様性」「一回性」という別の方向にカーブを描き始めているのではないかという気がするわけです。近代になって、自然科学は宗教に代って人々の絶大な信頼を得たわけですが、20世紀、科学・技術の実践のなかで、いろいろなプラスの面とマイナス面の両方が拡大してきました。そういう中で、21世紀は「生命科学」が中心になるだろうといわれているわけです。それは「生命科学」が新しく経済を引っ張っていくという意味ではありません。20世紀に見られた「自然科学と社会科学」、あるいは「科学と倫理」、「単純系と複雑系」、「開発と環境保全」等という対立命題、なかなか出口の見えない沢山の課題を、なんとか解決するキーワードになるのではないかという期待があるからだと思います。20世紀に隆盛を極めた「シンプル・イズ・ベスト」といった「単純主義」、あるいは「人間中心主義」、進歩は善であり、前進することに意味があるといったものから、調和と共生と、ソフトランディング、持続性社会といったものに価値観が変わってきつつあると思います。

生命科学では、本来の生物としての“ヒト”という、ごく当たり前の人間自身の意味を問い直すことが必要であるという気がします。ヒトが他の動物と切り離されて特別の生き物として位置づけられたり、自然と人間を対立概念におくのではなく、本来の位置に人間を戻すことです。従って、この「生命科学」という名に込められた期待は、多様な生命の共存方法と生物の多様性の意味を問うという学問であろうと考えます。社会科学を見ればわかるとおり、哲学も、文学も、経済学も、法学も、すべて人間、すなわちヒトが何者であるのか、あるいはヒトをヒトたらしめているのは何だろうか？そういうことを明らかにするということを学問の基礎においているわけです。じつは自然科学も同じで、根源的に言えば、人はヒトが何者なのか？という同じ疑問を基礎にもっているというふうに思います。ただこれまで、客観性に重きを置くために、人という主体を消すのが自然科学であるとしてきたために、こうした問題が自然科学のテーマにならなかったわけです。社会科学系と違って、自然科学がヒトの基礎たるものを知ろうということになると、どこからその情報を得るのかということになります。それは自分自身、すなわちヒトおよび地球上のほかの多くの生物種、生き物、これを対象に研究するということになります。したがってその方法というのは、「比較生物学」、進化論、それから「複雑系」をどう処理するかということがキーになります。実験動物学はヒトに役立つ研究のほかに、ヒトを知る研究が必要とされています。われわれ人類は21世紀に、140万種といわれている地球上の野生生物を含めて、どういうふうに棲み分け、どういうふうに共存できるかという道を探していかなければならないと思います。

生命科学の中での実験動物技術者の役割は？

動物実験は手品のようなもので、注目を集めるのは研究者（マジシャン）ですが、手品にタネが必要なように 研究には必ず優良な素材（実験動物）が必要ですし、素晴らしい手品師が華やかなのは優秀な黒子（研究支援者）がいるからです。
この三位一体の要素を保証するために、研究者への科学研究費

とは別に、2002年、文部科学省が初めて生命科学の総合的推進を図る目的で、研究資源事業を事業費として予算化しました。実験動物、植物、ES細胞、各種生物の遺伝子材料など国が体系的収集・保存・提供を行うための「ナショナル・バイオリソース・プロジェクト（NBRP）」をスタートさせました。2007年より第2期がスタート（29資源、1情報センター）しました。国際社会で生命科学の一翼をになう我が国としては、必ず持続させていかなければならない分野です。

同時に、こうした研究資源（リサーチリソース）の維持や研究支援には実験動物の専門的技術者が必要となります。こうした人材の育成と確保のためのプログラムの確立は、わが国では日本実験動物協会がその責任を負っています。技術指導員制度、教育認定制度、1級・2級試験制度などを試行錯誤しながら作ってきました。今後、こうして育成された専門技術者の社会的地位の保証が必要となります。

研究者と専門技術者は求められている能力は、必ずしも同じではありません。研究者は独創性、企画性、検証能力、分析能力、広い視野力が必要となりますし、他方専門技術者は技能（技術、経験）、継続性、忍耐力が必要です。研究者は実験の戦略を決める必要があります。実験目的の設定、戦略、戦術を決め、プロトコルを作る。また実験結果の分析、検証、論文の発表および新しい戦略を練る能力が求められます。技術者は一般技術、すなわち研究資源の維持（品質保証、安全管理）及び特殊技能として専門家としての研究支援（投与、計測、採材、検査）等の能力が求められます。こうした住み分けは今後、一層明確になってくると思います。

先行する専門技術者が自ら、次世代の実験動物技術者を育てる再生産制度を確立すること、実験動物専門技術者が国際的動物倫理・福祉の基準を順守する責任者として新しい役割担うことを考えると、現在の制度をどのように、国家資格に準ずる公的資格認知制度に持っていくかを検討する必要もあると思います。

（＊2009年、京都での実験動物技術者指導員研修会での講演の一部をまとめました）

「マウスノロウイルスの状況と研究」

「マウスにおけるマウスノロウイルス感染症」

東京大学大学院農学生命科学研究科実験動物学教室
准教授 **久和 茂**

はじめに

ノロウイルス(Norovirus)はカリシウイルス科ノロウイルス属に属するウイルスで、プラスセンス1本鎖RNAをゲノムとする、非エンベロープウイルスである。ヒトノロウイルス[2)]、ブタノロウイルス[7)]、ウシノロウイルス[5)]、マウスノロウイルス[3)]などが報告されている。

ヒトノロウイルス(HNV)は急性胃腸炎の原因ウイルスで、学校、病院などで食品を介した流行あるいは集団発生を誘発し、その対応は公衆衛生上の重要な課題となっている。しかしながらHNVに関する研究はあまり進んでおらず、有効な抗ウイルス薬やワクチンはない。1番の原因は培養細胞株を用いたHNVの増殖系がないことであろう。よい動物モデルがないことも研究の進展を阻んでいる要因として挙げられている。

一方、マウスノロウイルス(MNV)は2003年に初めて報告された新しいウイルスであり、遺伝子操作により作製された免疫不全マウスから分離された。MNVの研究はアメリカの研究者を中心に精力的に展開されているが、日本においてはまだ情報が少ないようである。(1) MNVはマウスにどのような病気を起こすのか?(2) MNVは動物実験の成績を修飾するのか?(3) MNVの診断法は?(4) 実験用マウスコロニーにMNVの感染は拡がっているのか?(5) MNVは微生物学的コントロールの対象なのか?(6) MNVはノロウイルス研究の進展に役立つのか?つまり、MNVをHNVの代用品として用いることにより、不活化法や消毒薬の開発に役立つのか?(7) マウスのMNV感染症はヒトのHNV感染症のモデルとなりうるのか?例えば、抗ウイルス薬やワクチンの開発に役立つのだろうか?もちろん、現段階でこれらの疑問に全て答えることはできないだろう。まずは、マウスにおけるマウスノロウイルス感染症についてみてみたい。

マウスノロウイルスの発見

インターフェロン(IFN)系が働かない免疫不全マウスであるRAG/STAT1欠損マウスやIFN $\alpha\beta\gamma$ レセプター欠損マウスに死亡個体が散発的に認められた[3)]。Karstらは病気のマウスの脳乳剤を同じ免疫不全マウスの脳内に実験的に接種した。その結果、接種されたマウスは死亡した。感染マウスの病理組織学的検索を行ったところ、髄膜炎、脳炎、大脳の血管炎などが観察された。同じ脳乳

剤を野生型マウスに接種しても致死性病変は誘導されなかったので、その病原体はIFN感受性であろうと推察された。さらに病原体は濾過性であることが判明し、ウイルスであることが強く疑われた。そこで彼女らはRDA法でウイルス遺伝子の分離を試みた。その結果、全長7,382bpからなるウイルスゲノムの分離に成功し、そのゲノム構造はHNVと類似していることが判明した。系統樹解析を行ったところ、このウイルスはカリシウイルス科ノロウイルス属に属することが示唆された。そこで、マウスノロウイルス1型(MNV-1)と命名された。

Karstらは分離されたMNV-1が免疫不全マウスに病気を起こしていた病原体であることを確認するために、MNV-1感染IFNαβγレセプター欠損マウスの脳乳剤を塩化セシウム(CsCl)密度勾配で超遠心し、ウイルス粒子の精製を試みた。その結果浮上密度1.36±0.04 g/cm^{3}の分画にHNVと似た、小型球形ウイルス粒子(直径28-35 nm)が見つかった。この精製ウイルス粒子を前述のRAG/STAT1欠損マウスに脳内接種したところ、元の脳乳剤を接種したマウスと同じ経過をたどって死亡し、病原体はMNV-1であることが強く示唆された。

彼女らは次にMNV-1をIFNαβγレセプター欠損マウス、STAT1欠損マウス、RAG/STAT1欠損マウスの3系統の免疫関連遺伝子欠損マウスに経口、脳内あるいは経鼻接種し、動物の生死を観察した。その結果、(1) MNV-1はIFNαβγレセプター遺伝子やSTAT1遺伝子などの自然免疫関連遺伝子欠損マウスにおいて致死的な感染を起こすこと、(2) STAT1(自然免疫関連遺伝子)とRAG(獲得免疫関連遺伝子)の双方を欠損したマウスはより感受性が高いこと、(3)脳内接種が最も重篤な感染を引き起こすこと、などを明らかにした。また、RAG1あるいはRAG2欠損マウス(獲得免疫が機能しないマウス)において、MNV-1感染90日後の臓器でウイルスRNA量を測定したところ、肺、肝臓、脾臓、小腸、血液などでウイルスRNAが検出された。これらの結果は、獲得免疫系が働かないとマウス個体からMNVは排除されないことを示唆している。

マウスに対するMNVの病原性

マウスにおいては、MNVは通常不顕性感染である。不顕性感染であるが故に、つい最近まで発見されなかったのであろう。しかしながら、現在ではELISA法やRT-PCR法でMNV感染症を診断することができ、免疫組織化学法を用いれば病変とMNVの関連を調べることも可能である。

MumphreyらはMNV-1.CW3株を野生型マウスに実験感染し、その病態を詳細に検索した[6)]。一般的にRNAウイルスはゲノムの変異が起こりやすく、異なる塩基配列を持つウイルス集団として存在する(quasi-species)が、彼らが用いたCW3株はMNV-1から分離された、MNV-1としては病原性の強いウイルス株である。このウイルスを129マウスに経口接種し、1週間その経過を追った。まず、小腸、脾臓、肝臓で接種後5日まで感染性ウイルスが検出されている。肺においても感染3日後にウイルスが検出されている。しかしながら、感染7日後には上記の組織からウイルスは検出されなくなった。また、病理組織所見・臨床所見として (1)感染1日後の腸管の炎症細胞数(主に好中球)が増加したこと、(2)感染1日後の腸管のアポトーシス細胞数が減少したこと、(3)感染3日後の直腸糞便重量が減少したこと、(4)感染3日後の脾臓の白脾髄が活性化したことなどを報告している。体重、胃内容物重量、腸内容物重量、下痢スコアに関しては対照群と差がなかったという。また、MNV.CW3株感染3日後の129マウス脾細胞をフローサイトメトリーで解析した結果、F4/80陽性細胞、CD11c陽性細胞およびB220陽性細胞の比率が増加していた。なお、F4/80はマクロファージおよび一部の樹状細胞に発現する細胞表面マーカーで、CD11c ならびにB220はそれぞれ樹状細胞ならびにB細胞および一部の樹状細胞に発現する表面抗原である。CD11b、CD4およびCD8陽性細胞の比率は対照群と有意差はなかった。以前、マウス肝炎ウイルス(MHV)実験感染マウスの脾細胞をフローサイトメトリーで解析したことがあるが、MHV感染に比較するとMNV感染による変化は極めて軽度のものであると言える。

一方、米国国立衛生研究所のWardらはMNVの免疫不全マウスにおける病理組織学的変化について報告している[8)]。彼らの報告によれば、Rag1/IFN-γレセプター欠損マウスなどで肝炎、間質性肺炎、腹膜炎、胸膜炎などが観察され、また腸間膜リンパ節、脾臓などのリンパ系組織(マクロファージ、樹状細胞)、小腸上皮でウイルス抗原が見つかったという。

MNV-1は野生型マウスでは急性感染であり、1週間以内にウイルスがマウスから排除されることを上述したが、Hsuらは別のウイルス株を用いて野生型マウスにおいてもMNVは慢性化することを報告している[1)]。すなわち、ICRマウス各群10匹にMNV-1、MNV-2、MNV-3およびMNV-4株を経口接種し、経時的(接種0〜56日後)に

糞便を採取し、RT-PCR法によりウイルスRNAの有無を調べた（表1）。MNV-1接種マウスでは2日後の糞便からウイルスRNAが検出されたが、その後全く検出されなくなった。一方、MNV-2、MNV-3およびMNV-4を接種されたICRマウスの糞便からはウイルスRNAが実験期間中検出されている。つまり、ウイルス株によりマウス個体でのウイルスの持続性が異なること、またMNV感染は往々にして慢性化することが示めされた。なお、長期持続例では腸管膜リンパ節、空腸および脾臓からMNVのウイルスRNAが検出されている。

ところで、MNVはマウスのどの細胞で増殖するのだろうか。Wobusらは免疫組織化学法により、肝臓のクッパー細胞および脾臓のマクロファージなどでウイルス抗原が検出されることを報告している[9]。また、ディッシュに培養したマクロファージや樹状細胞にMNV-1を接種すると、培養上清中のウイルス量は時間と共に上昇し、一方これらの細胞は細胞変性効果（CPE）を示し死滅することが観察されている。すなわち、マクロファージや樹状細胞がMNVの主要な宿主細胞であるらしい。RAW 264.7細胞はマウスのマクロファージ様腫瘍細胞株であるが、MNVはこの細胞株でよく増える。

MNVは動物実験成績に影響するか?

MNVの動物実験成績への影響に関する最近の報告を紹介したい。Mdr1a欠損マウスに*Helicobacter bilis* (*H. bilis*)を感染させる炎症性大腸炎（IBD）モデルがある。LencioniらはMNV感染がIBDモデルの病態にどのような影響を与えるか報告している[4]。すなわち、MNVと***H. bilis***共感染Mdr1a欠損マウスの病態と従来の***H. bilis***単独感染Mdr1a欠損マウスの大腸の病態を比較し、MNV感染の影響について考察した。共感染群では、体重が***H. bilis***単独感染群よりも明らかに減少し、粘膜の肥厚およびリンパ球、マクロファージなどの炎症性細胞浸潤を伴った激しい大腸炎が認められた。このようにMNV感染を追加することにより病態は明らかに増悪し、少なくとも本実験系に関して言えばMNVは実験成績に影響する。どうもMNVは免疫系の変調に関与しているらしい。マウスは多様な動物実験に使用されているが、今後もいろいろな実験系においてMNVがその成績に影響を与えるか、データを積み上げていく必要があるだろう。

さいごに

MNVは近年見つかった病原体であり、IFN系機能不全マウスにおいて致死的な感染を起こす。病理組織学的には肝炎、間質性肺炎、腹膜炎、胸膜炎などが認められる。免疫学的に正常なマウスでは不顕性感染であり、ウイルス株によりすぐに排除されるもの、持続するものがある。臓器としては腸管膜リンパ節、腸管、脾臓などでウイルスは増殖し、マクロファージや樹状細胞でよく増殖するらしい。HNVと異なり、MNVはRAW 264.7細胞などの培養細胞株で容易に増やすことができる。また、MNVは動物実験成績を修飾することがあるらしい。

遠矢らは日本でMNV-S7株を分離した。我々はこのウイルス株を用い、最近間接蛍光抗体法およびELISA法のシステムを樹立した。今後これらのシステムを用い、日本におけるMNVの汚染状況を明らかにするとともに、MNVを用いたHNVモデルの可能性にも挑戦してみたいと考えている。

表1. MNV経口感染ICRマウスの糞便からのウイルスRNAの検出

マウス系統	陽性率 (%)							
	0日	2日	4日	8日	14日	28日	42日	56日
非感染マウス	0	0	0	0	0	nd	0	0
MNV-1接種マウス	0	60	0	0	0	nd	nd	nd
MNV-2接種マウス	0	100	100	100	100	nd	100	100
MNV-3接種マウス	0	100	100	100	100	100	100	100
MNV-4接種マウス	0	100	100	100	100	nd	100	100

nd：検査実施せず

Hsuら[1]より改変

参考文献

1. Hsu, C.C. *et al.* Comp. Med. 56: 247-251, 2006.
2. Kapikian *et al.* J. Virol. 10:1075-1081, 1972.
3. Karst, S.M. *et al.* Science 299: 1575-1578, 2003.
4. Lencioni, K.C. *et al.* Comp. Med. 58: 522-533, 2008.
5. Liu *et al.* J. Virol. 73:819-825, 1999.
6. Mumphrey S.M. *et al.* J. Virol. 81: 3251-3263, 2007.
7. Sugieda *et al.* Arch. Virol. 143:1215-1221, 1998.
8. Ward, J.M. *et al.* Toxicol Pathol. 34:708-715, 2006.
9. Wobus, C.E. *et al.* PLoS Biol. 2: e432. 2004.

「マウスノロウイルスの状況と研究」

わが国の実験用マウスにおけるマウスノロウイルスの汚染状況

帝京大学 医療技術学部 臨床検査学科
准教授 **後藤 一雄**

はじめに

感染防御に対する実験動物ユーザーの意識の高まりや微生物モニタリングの考え方が普及したことなどもあり、実験用マウス・ラットにおける重大な病原体の汚染率は近年低下の傾向にある。現在、SPF施設と思われる製薬企業等においては*Staphylococcus aureus* (黄色ブドウ球菌)や*Pseudomonas aeruginosa*（緑膿菌）など日和見病原体が検査総数の3割程度見られるものの[7]、マウスに致死的な病気をもたらすセンダイウイルスやマウス肝炎ウイルスなどはほとんど検出されていない。大学等コンベンショナルグレードが含まれる施設でさえ、前述のSPF施設で見られる病原体に加えて、*Pasteurella pneumotropica*や消化管内寄生虫が検査総数の1割前後見られる程度である（ただし*Helicobacter hepaticus*や*H. bilis*以外の非病原性Helicobacter属菌の汚染率は高い[4])。

このように既知の病原体のコントロールが十分になされるようになった一方で、いわゆる“実験動物の新興感染症”がほぼ10年おきに“出現”しており、本当に興味深い。私の記憶するところでは1985年にCilia-associated respiratory (CAR) bacillus [2] がマウス・ラットの呼吸器病原体として、1994年には*H. hepaticus* [1] がマウスの肝細胞壊死・腸炎の原因菌として、最近では*Bordetella hinzii*がマウスの呼吸器病原体として見つかっている [5]。これまで、感染症にかかった実験動物はただちに淘汰の対象となっていたが、遺伝子改変動物等いわゆる“貴重な”実験動物が増えたことでこれらが淘汰されず、しかも遺伝子改変によって免疫機能を低下させた動物に感染し発症することで今まで気づかれなかった病原体が日の目を見ることとなった。今回話題となったマウスノロウイルスの他、カリニ肺炎、前述の*H. hepaticus*および*B. hinzii*などはその良い例と言える。さらに、海外から輸入される遺伝子改変動物の増加も国内においてこれら病原体が拡散する原因になっていると思われる。

マウスノロウイルス

ノロウイルスはもともとヒトに下痢を起こす食中毒の原因ウイルスで、免疫電子顕微鏡によって発見された最初のウイルスである [8]。当初は、見つかったアメリカの地名を冠してノーウォークウイルス（*Norwalkvirus*）と呼ばれていた。一方、マウス固有のノロウイルス（Murine norovirus; MNV）は2003年Karstらによって初めて報告された[9]。どちらもCaliciviridae科Norovirus属で1本鎖RNA、3つのORFをもち、糞便を介して感染する。大きな違いは、マウスノロウイルスは (1)免疫が正常なマウスに感

染しても下痢等の臨床症状を示さないこと、そして (2) マウスマクロファージ由来のRAW264.7細胞で増殖可能なことである[10]。また、マウスノロウイルスはその全塩基配列も明らかにされており、抗体検査による診断およびPCR法による核酸検査も可能となっている。

MNVの検査法

抗体検査は、本ウイルスが細胞で培養可能なことから従来のELISA法で行うことができるが、現在アメリカから輸入されるマウスに添付されてくる抗体検査結果 (Serology Results Report)のほとんどはELISA法ではなくMicrosphere fluorescent immunoassay (MFI)と呼ばれる新しい抗体検査法で行われたものである。この方法は異なる色に着色されたルミネックスビーズに抗原を化学的に結合させ、ビーズ上の抗原と血清中の抗体を反応させた後、蛍光ラベルした二次抗体を反応させてビーズの色と二次抗体の有無をレーザーによって解析するものである。1反応チューブあたり100種のビーズをいれることができるため、理論上は1度に100種の抗原に対する抗体を同時測定することが可能である。本法はコストおよび反応時間がELISA法よりすぐれていることから今後我が国においても普及することが予想される。ただし、非特異的反応はELISA法と同等程度観察されることから、これまでと同様に間接蛍光抗体法などによる確認検査が必要である。Hsuらは本法を用いてMNV-1, 2, 3および4株の抗原性を比較しウイルス株によって抗原性に差異のあることを示唆している [6]。

ウイルス核酸の検出法としてはRT-PCR法がもっとも一般的である。今回我々は検査材料からRNAを抽出しRT-nested PCR法によって直接、ウイルス核酸の検出を試みた。疫学調査の検査材料は盲腸から抽出したRNAを用いた。DNAへの逆転写はオリゴdTプライマーを、MNV検出用プライマーはGenBankより得られたMNVの塩基配列(NC008311)のうちRNA polymerase geneから設計した。1st PCRはF: 5'-GAC ATC ATG GTG CGC CT-3'およびR: 5'-CTC ATT CAC AAA GAC TGC TG-3'、2nd PCRのプライマーはF: 5'-TCY TTC TAT GGT GAT GAY GAおよびR 5'-TCT CAG CAT CCA TTG TTC CA-3'であり、その増幅産物は466bpである [3]。MNVのPCRはこのほかにも多数報告がなされており、他のプライマーを用いても増幅可能である。

MNVウイルス株の入手

PCRによる検査系の確立に先立ち、ウイルス株を入手する目的でまず我々は（財）実験動物中央研究所 ICLASモニタリングセンターに微生物検査のために送られてきたすべてのマウスの糞便について、PCR検査を行うことから始めた。用いたプライマーは前述の自作プライマーの他、正確さを期すためにHsuらによってすでに報告されていたもの[6]も使用した。HsuらのプライマーはCapsid proteinをコードしている遺伝子から設計されたもので187bpを増幅する。その結果、いくつかの検体でどちらのプライマーとも反応するPCR陽性検体が得られた。さらに、PCR陽性を示した検体のうち1つを選んで塩基配列の決定、およびホモロジー検索を実施したところ、RNA polymerase geneを増幅した産物の塩基配列はMNV (Accession no. EU004676)と95.7%、アミノ酸配列はMNV (A5HIS9)と99.3%のホモロジーを示した。また、Capsid protein geneを増幅した産物はMNV (EU004671)と98.4%、アミノ酸配列はMNV (A5HITO)と100%のホモロジーを示し、本検体中にMNV核酸が含まれていることが確認された。以降の感染実験にはこの糞便材料を出発材料として使用した。今回得られたMNVの塩基配列についてはDDBJ (DNA Data Bank of Japan; http://www.ddbj.nig.ac.jp/)へ登録した（accession number AB469416)。詳細はそちらを参照していただきたい。

感染実験

次に我々はPCR法で検査に適した検査材料および検査時期を調べる目的で、同居感染後の経時的なウイルス核酸の排泄および体内における分布を調べた。6週齢♀C.B-17-Prkdc^{scid} (scidマウス)、および6週齢♀Jcl:ICR (ICRマウス)それぞれ3匹に前述のMNV感染糞便に10倍量のPBSを加えてホ

表1. マウスノロウイルス経口感染マウスに同居させたscidおよびICRマウス糞便からのウイルス核酸の経時検出

マウス系統	陽性数/検査数						
	同居後の日数						
	0	2	4	7	14	21	56
scid*	0/3	1/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3
ICR	0/4	3/4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4

*:C.B-17-Prkdc^{scid}

表2. マウスノロウイルス経口感染マウスと同居60日目のscidおよびICRマウス臓器におけるウイルス核酸の検出

臓器等	陽性数/検査数	
	scid*	ICR
盲腸	3/3	3/3
糞便	3/3	3/3
十二指腸	1/3	3/3
肝臓	1/3	1/3
脾臓	0/3	3/3
脳	0/3	0/3
心臓	0/3	0/3
腎臓	0/3	0/3
肺	0/3	0/3
卵巣	0/3	0/3
唾液腺	0/3	0/3
胸腺	0/3	0/3
子宮	0/3	0/3

*:C.B-17-Prkdc^{scid}

モジナイズした材料0.2mlを経口投与し、4日後未感染の同系統マウスをそれぞれ3および4匹ずつ同居させた。同居マウス糞便中へのウイルス核酸排泄をPCR法によって経時的に観察した結果を表1に示した。ウイルス核酸は同居2日目で1/3および3/4、4日目から56日にわたりすべてのマウスで検出された。さらに同居60日後、同居させたscidおよびICRマウス各3匹について臓器中のウイルス核酸の有無を調べたところ表2に示す通り、盲腸および糞便材料でウイルス核酸が100% (3/3)検出され、ICRではさらに十二指腸および脾臓においてもウイルス核酸が100% (3/3) 検出された。いずれの系統においても子宮内感染は観察されなかった。これらの結果から、感染動物との同居によって容易に感染が成立すること、ウイルスは長期にわたってマウスに定着し糞便中に排泄されることが示され、PCR法による本ウイルス検査材料には糞便検体が適当であると思われた。また、この実験において子宮内感染が確認されなかったことから、帝王切開による本ウイルスのクリーニングが可能であると考え、8週齢♀NOD-scidマウスにMNVを経口投与し、投与5日目に9週齢♂NOD-scidマウスと同居させ、MNV感染妊娠マウスを作出した。妊娠18日目に胎児をとりだし、親マウスおよび胎児についてウイルス核酸を検査した結果、♀および♂親マウス糞便からはウイルス核酸が検出されたが、得られた胎児8匹からはいずれもウイルス核酸は検出されず、本実験においても帝王切開による本ウイルスのクリーニングの有効性が確認された。感染実験においてはいずれのマウスも下痢等の臨床症状を起こした個体は見られなかった。

疫学調査

感染実験の結果をうけて、2007年、（財）実験動物中央研究所ICLASモニタリングセンターに微生物検査の目的で送られてきた59のコンベンショナル施設由来

表3. 各施設でRT-PCR検出されたマウスノロウイルス塩基配列のホモロジー検索結果

施設	もっとも高いホモロジーを示した MNV株名 (Accession Number)	ホモロジー (%)
A	MNV 4 polyprotein (DQ223043)	95.9
B	MNV 4 polyprotein (DQ223043)	95.1
C	MNV 4 polyprotein (DQ223043)	95.1
D	MNV 4 polyprotein (DQ223043)	95.3
E	MNV 4 polyprotein (DQ223043)	95.1
F	MNV GV/CR15/2005/USA (EU004681)	94.2
G	MNV GV/CR3/2005/USA (EU004673)	95.7
H	MNV GV/CR13/2005/USA (EU004680)	94.4
I	MNV strain Berlin/04/06/DE (DQ911368)	95.7
J	MNV strain Berlin/04/06/DE (DQ911368)	95.7
K	MNV strain Berlin/04/06/DE (DQ911368)	95.1

マウス245匹のマウスの盲腸についてMNV核酸の検査をPCR法によって行い、増幅産物については塩基配列の確認を行った。MNVは33/245 (13.1%)検体、15/59 (25.4%)施設から検出された。MNV陽性15施設のうち11施設から検出されたMNVの塩基配列についてホモロジー検索を行った結果を表3に示す。その結果、得られた株はMNV-4、MNV GVまたはMNV strain Berlin/04/06/DEと94.2%以上のホモロジーを示し、我が国において複数のMNV株が流行していることが示唆された。しかし、感染実験と同様にMNV陽性マウスのいずれにおいても臨床症状を示した個体は見られなかった。さらに、SPF施設に関しては15施設以上調べているがこれまでMNV感染は認められていない。

おわりに

実験用マウスの新しい病原体として2003年に報告されたMNVであるが、これまでの知見からヒトのノロウイルス感染とは異なり免疫正常マウスおよびscidマウスには下痢等の病気を起こさないウイルスであると思われる。したがって現時点で本ウイルスはICLASモニタリングセンターがカテゴリー分けするところの「マウスを致死させることはないが発病あるいは不顕性感染を起こす微生物」に分類されると考えられる。同じカテゴリーに分類されるウイルスには乳酸脱水素酵素上昇ウイルス (Lactic dehydrogenase elevationg virus)、マウスアデノウイルス (Mouse adenovirus)、マウス肺炎ウイルス (Pneumonia virus of mice) などがある。しかし、本ウイルスに感染したマウスの生理機能、繁殖への影響等についてはまだまだわからないことが多く、感染マウスの各種実験への影響については今後の研究が待たれるところである。また今回結果には示していないが、real time PCRの結果ではC57BL/6およびBALB/c間で各臓器におけるウイルス量が後者で高い傾向にあり、系統差およびその原因についても今後研究すべき課題である。

最後に、ここに示した実験内容は、（財）実験動物中央研究所ICLASモニタリングセンターにおいて行ったものです。実験に際しましてはセンターの職員の先生方に多大なるご協力をいただきました。この場を借りてお礼申し上げます。

参考文献および関連URL

1. Fox JG, Dewhirst FE, Tully JG, Paster BJ, Yan L, Taylor NS, Collins MJ Jr, Gorelick PL, Ward JM. Helicobacter hepaticus sp. nov., a microaerophilic bacterium isolated from livers and intestinal mucosal scrapings from mice. J Clin Microbiol. 1994 May;32(5):1238-45.

2. Ganaway, J. R .. Spencer, 1'. H., Moore. T. D. and Allen, A. M. Isolation, propagation, and characterization of newly recognized pathogen, cilia-associated respiratory bacillus of rats, an etiological agent of chronic respiratory disease. 1985. Infection and Immunity 47: 472-479.

3. Goto, K., Hayashimoto, N., Yasuda, M., Ishida, T., Kameda, S., Takakura, A., and Itoh, T. Molecular detection of murine norovirus from experimentally and spontaneously infected mice. 2009. Exp. Anim. 58:135-140.

4. Goto, K., Ohashi, H., Takakura, A., and Itoh, T. Current status of Helicobacter contamination of laboratory mice, rats gerbils, and house musk shrews in Japan. Curr. Microbiol. 2000. 41: 161-166
5. Hayashimoto, N., Yasuda, M., Goto, K., Takakura, A. and Itoh, T. Study of a Bordetella hinzii isolate from a laboratory mouse. 2008. Comp Med. 58(5): 440-6.

6. Hsu, C., Riley, L., Wills, H., and Livingston, R. Persistent Infection with and serologic cross-reactivity of three novel murine norovirus. 2006. Comp. Med. 56:247-251.
ICLASモニタリングセンター [Online] http://www.iclasmonic.jp/

8. Kapikian A. Z., Wyatt R. G., Dolin R., Thornhill T. S., and Kalica A. R. Visualization by immune electron microscopy of a 27 nm particle associated with acute infectious nonbacterial gastroenteritis. 1972. J. Virol. 10:1075-1081

9. Karst, S.M., Wobus, C.E., Lay, M., Davidson, J.D., and Virgin, H.W. STAT1-dependent innate immunity to a Norwalk-like virus. 2003. Science. 299: 1575-1578.

10. Wobus, C. E., Karst, S. M., Thackray, L. B., Chang, K. O., Sosnovtsev, S. V., Belliot, G., Krug, A., Mackenzie, J. M., Green, K. Y., and Virgin, H. W. 2004. Replication of Norovirus in cell culture reveals a tropism for dendritic cells and macrophages. PLoS Biol. 2:2076-2084.

遺伝子改変霊長類作出

実験動物中央研究所
室長　佐々木えりか

現在、数多くの遺伝子改変マウスが作製され、予防治療薬の評価系、病態発症機構の解明、遺伝子機能の解析などの幅広くバイオメディカル研究分野で利用されている。しかしながら、ヒトの疾患原因遺伝子との相同遺伝子が必ずしもヒトと同じ病態を示さないことや薬剤代謝が異なることから、マウスのヒト疾患モデル動物を用いた予防治療薬の治療効果・安全性、病態発症機構の解明の結果がヒトに直接外挿できない場合もある。特に大脳皮質や大脳基底核などの終脳が関与する高次脳機能の解析はマウスでは限界があり、パーキンソン病などの大脳基底核の疾患モデルマウスではヒトのような症状が観察されない例も多くみられる。また近年マウスの脳では発現せず、霊長類の脳に特異的に発現する遺伝子も数多く見出されつつある。このように、マウスの遺伝子改変技術がどんなに発達しても「霊長類を用いないとできない」研究があり、有用な霊長類モデルを開発することは重要な研究課題となっている。我々は小型の霊長類コモンマーモセット（マーモセットの詳細については本誌1月号を参照）を用いて、バイオメディカル研究分野において実用化可能な遺伝子改変マーモセットの作出を確立した[1)]。

霊長類の遺伝子改変作出およびその効率

霊長類の実験動物としてアカゲザル、カニクイザル、ニホンザル、マーモセットなどがバイオメディカル研究分野で利用されているが、遺伝子改変霊長類作出に関する研究報告は幾つかあるもののバイオメディカル研究における実用化には至っていない。2001年にChangらはアカゲザルの未受精卵にレトロウイルスベクターを用いてGFP遺伝子を導入したトランスジェニック霊長類の作出を、同年にWolfgangらがレンチウイルスベクターを用いてアカゲザルの胚盤胞へ遺伝子導入を行い産仔を得たが、胎盤でGFPの発現が認められたと報告したが、いずれの産仔も体細胞では導入遺伝子GFPの発現は認められなかった[2, 3)]。更に、Yangらはハンチントン舞踏病の原因遺伝子を導入したアカゲザルを作出したが、導入遺伝子を発現した動物は生後まもなく死亡している[4)]。

我々はコモンマーモセットが霊長類のなかでも極めて高い繁殖能力を示すこと、世代交代に必要な性成熟までの時間が短いことなどから、霊長類で発生工学の研究を行うのに適した動物であることに注目し、2003年より遺伝子改変マーモセット作出を目指して、その基礎となるマーモセットの発生工学の研究を行い、受精卵採取法、卵巣刺激法、体外受精法、胚移植法、胚のガラス化保存法などを確立した。次いで、これらの発生工学技術を組み合わせ、導入遺伝子のサイレンシングが比較的起きにくいとされているレンチウイルスベクターを用いてマーモセット受精卵にGFP遺伝子を導入し、5匹の産仔を得た（図1）。5匹の産仔のうち、4匹は毛、皮膚、血液など種々の体細胞において、残る1匹は胎盤において、導入遺伝子であるGFPの発現が認められ、得られた産仔5匹全てがトランスジェニックマーモセットであることが示された。

マーモセット胚への遺伝子導入効率は、IVF卵の場合、73.9%であり自然交配卵の場合96.2%であった。また、トランスジェニックマーモセットの作製効率（産仔数/胚移植数）はIVF卵を用いた場合5.2%、自然交配卵を用いた場合6.6%であり、さらに生まれた5匹の動物全てがトラスジェニック動物であった事などから、今後のトランスジェニック動物作出を実用化するのに充分な効率であると考える。これらの成功の背景には、様々な細かい工

夫の積み重ねがあった。

第一にレンチウイルスによる遺伝子導入効率を上げるための工夫である。通常、ウイルスベクターを用いて受精卵へ遺伝子導入を行う際、囲卵腔と呼ばれる受精卵と透明帯との間隙にウイルス液を注入することによって行うが、マーモセットの囲卵腔は非常に小さく、ウイルスベクターを注入する事が困難だった。そこでマーモセット受精卵を0.25Mスクロース添加培地に移して受精卵を一時的に脱水させることにより、囲卵腔を拡げてウイルス注入を行ったところ(図2)、ウイルス注入量が増加し、遺伝子導入効率も有為に上昇した(表1)。また、少ない体積でもなるべく多くのウイルス粒子が注入できるように、5.6×10^{9}〜5.6×10^{11} transducing unit/mlに濃縮したウイルスベクター溶液を用いた。

第二に遺伝子導入する受精卵に自然交配卵および体外受精卵の両方を用いたことである。自然交配卵は個体作出能が高くよりトランスジェニック個体を得やすいこと、一方、体外受精卵は前核期胚に遺伝子を導入できることから、よりモザイク率が低い個体が得られる事が理由である。実際に自然交配卵より4匹の個体を得ており、体外受精卵から得られた個体は導入遺伝子数が2コピーでモザイク率も低い個体が得られている。

第三に今回はGFPの発現が認められた胚のみを胚移植したことにより、産仔が全てトランスジェニック個体であったことである。この事は、動物愛護の点においても重要な意味を持つ。マーモセットの場合、得られた産仔がトランスジェニック動物ではなかったからといって処分するのは倫理的に難しい。一方、このような動物を全て飼育することは、飼育スペース、飼育経費の面から現実的ではない。そこで得られる産仔のトランスジェニック率を限りなく100%に近づけるためには、このような蛍光タンパク質等をマーカーにして、遺伝子が導入され、かつ発現が確認された胚を選択することが今後とも重要となる。

更に、得られた5匹のうち性成熟を迎えた2個体において導入遺伝子の生殖細胞への伝達が認められ、この導入遺伝子が次世代で機能していることが明らかとなった(図3)。このことにより、霊長類でもトランスジェニック個体を作出して、系統化が可能であることが世界で初めて示された。

今後は、より多くの疾患に対応するためにマウスと同様に標的遺伝子をノックアウトした動物を作出する方法の検討が課題となる。

倫理的配慮

トランスジェニック霊長類作出に関しては倫理的な問題は避けられない。これに関しては、動物実験の国際原則である「3R (Replacement, Reduction, Refinement)」に基づいて行うことが必須である。

トランスジェニック霊長類は、ヒト疾患モデルとしてだけではなく組織特異的に蛍光タンパク質を発現するトランスジェニック霊長類であれば、経時的に同一個体を用いて非侵襲的に蛍光イメージング等で目的とする組織の発生・発育過程を観察することが可能になり、3Rの
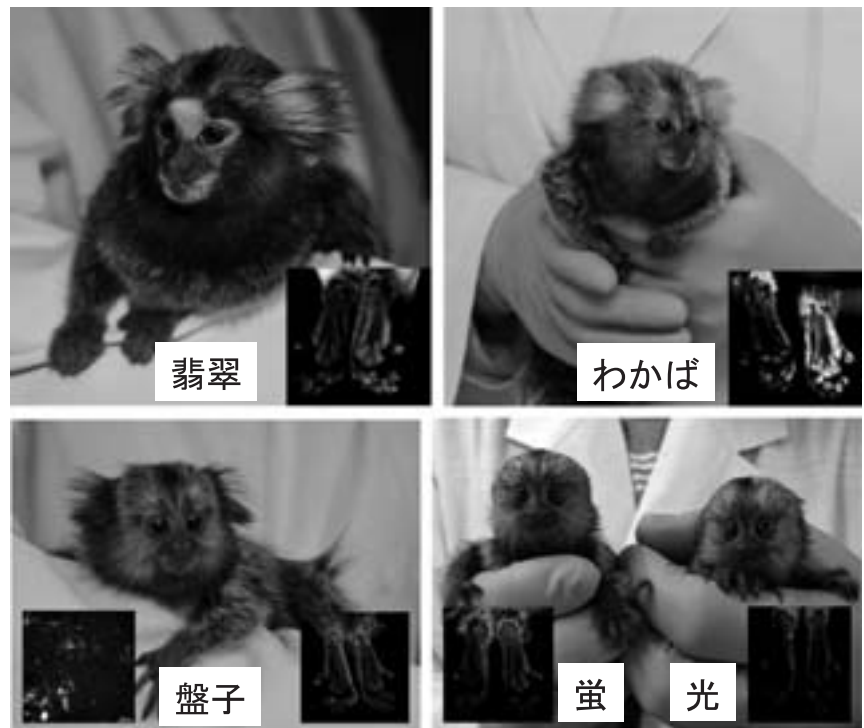
図1. ウィルスベクター法により生まれた5匹のトランスジェニックマーモセット
翡翠、わかば、蛍および光は体組織でGFPの発現が認められ、盤子は胎盤でのみGFPの発現が認められた。
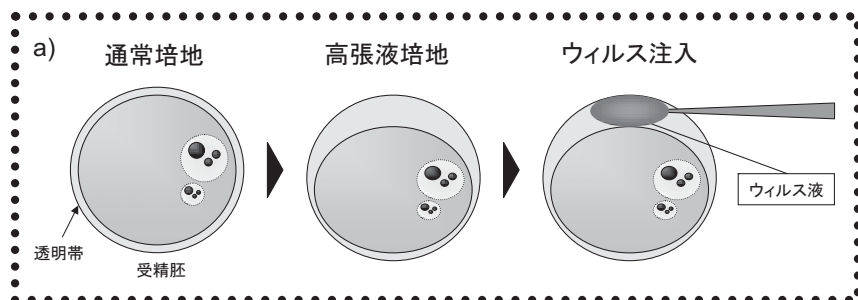
図2 a) マーモセット受精卵は通常、卵子と透明帯の間の隙間が非常に小さいが、高張液培地に入れることで卵子が収縮し隙間が拡大する。その隙間に濃縮したウィルスベクター液を注入する。

表1 スクロース液の添加による遺伝子導入効率の上昇

	Suc-	Suc+
レンチウイルス注入卵数	76	44
GFPを発現した卵	31	43 *
GFP発現率	40.8	97.7

*P<0.01

GFPを発現した受精卵を仮親マーモセットへ移植
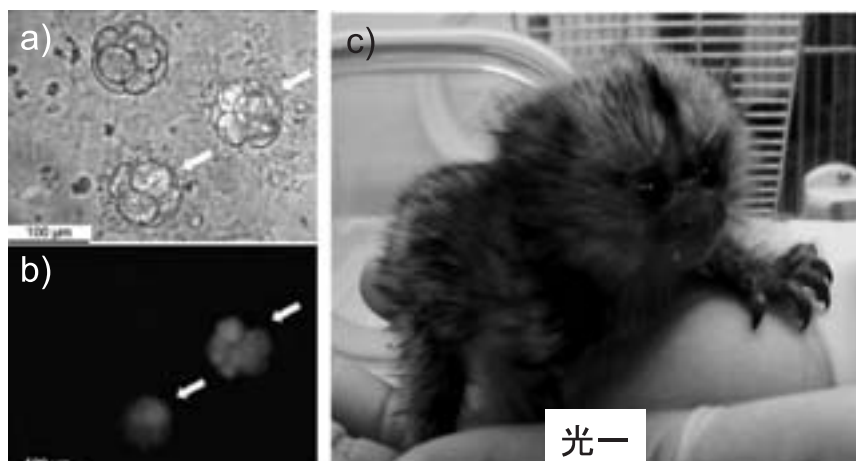
図 3. トランスジェニックマーモセットの精子を用いて作出された体外受精卵
生殖細胞系列にGFP遺伝子の導入が確認された「光」の精子を用いて体外受精をおこなった結果、得られた体外受精卵のa)明視野とb)暗視野。c)生まれた光の仔「光一」。

ReductionおよびRefinementに貢献する技術でもある。また、トランスジェニック霊長類個体作出に関しても現在、受精卵採取、胚移植等は現在、非外科的に行う事が可能となっているが、我々は未受精卵採取法、性周期把握の為の採血の軽減など、より少ない動物数で動物に対して低侵襲な方法で遺伝子改変マーモセットを作出できるReductionおよびRefinementを進める技術の確立を続けている。

近年iPS細胞やES細胞の研究が盛んになり、新規に開発される薬剤の治療効果・安全性は細胞レベルでの検討が可能になり、一部に関してはReplacementが可能となっているが、最終的な生体に対する有効性・安全性には現在でも動物実験以外では検証不可能である。我々は動物を犠牲にすることへの対価として得られる動物実験の結果が充分に動物を犠牲にしたことを上回るものであるかを常に考えながら研究を計画していかなければならない。

参考文献

1) Sasaki E, Suemizu H, Shimada A et al.: Generation of transgenic non-human primates with germline transmission. Nature 459: 523-7, 2009

2) Wolfgang M J, Eisele S G, Browne M A et al.: Rhesus monkey placental transgene expression after lentiviral gene transfer into preimplantation embryos. Proc Natl Acad Sci U S A 98: 10728-32, 2001

3) Chan a W, Chong K Y, Martinovich C et al.: Transgenic monkeys produced by retroviral gene transfer into mature oocytes. Science 291: 309-12, 2001

4) Yang S H, Cheng P H, Banta H et al.: Towards a transgenic model of Huntington's disease in a non-human primate. Nature 453: 921-4, 2008

現在の動物実験代替法の状況について

国立医薬品食品衛生研究所　安全性生物試験研究センター
薬理部　新規試験法評価室
室長　小島　肇夫

1. はじめに

世界的な規模で、動物福祉および動物実験の3Rs（Reductio、RefinementおよびReplacement）推進が叫ばれている。しかし、Replacementを意味する動物実験代替法（以下、代替法と記す）の普及はほとんど進んでいない。in silicoと言われるコンピュータを用いた予測システムや、代替法と言われる*in vitro*トキシコロジー試験の研究・開発の多くはまだ道半ばである。ただし、in silicoやin vitroの進歩だけでなく、-omicsや幹細胞研究の結果から劇的な変化が生まれないとは限らない。Replacementはともかく、少しずつ動物実験の3Rsのうち、ReductionやRefinementの方向に向かって行くことは間違いない。21世紀は動物実験を減らしていくという米国ナショナルアカデミー協会の方針に従い[1)]、使用動物数は確実に減っていくであろう。

2. 国際的な動向

欧米では動物愛護問題が盛んであり、社会的にもその必要性が問われ、規制も掛けられている。主な動物実験の規制問題は、化粧品およびREACH（Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of CHemicals）である。化粧品の規制に関しては、2003年に化粧品指令7次改正が公布され、2009年3月に代替法が確立されている試験がある場合には、①EU域内での動物実験の完全禁止、②動物実験した製品，動物実験をした原料を含む製品の販売禁止が決められている[2)]。これに間に合わせるべく、EUでは欧州化粧品工業会（COLIPA）とECVAM（European Center for the Validation of Alternative Methods）が共同で試験法の開発、バリデーション（検証）および第三者評価を進めてきた。ただし、2009年時点で開発された代替法は少なく、各社が自主的に動物実験を中止して限られた代替法で安全性を担保するとともに、規制対象となる新原料の開発を中止している段階である。

一方、REACHとはすでにEU市場に流通している既存化学物質に関し、その製造・輸入を行う事業者は、その安全性データなどを揃え、登録が義務つけられる規制を指す。登録、評価、認可、制限の総称である[3,4)]。この安全性評価はハザードベースでなく、リスクベース（ハザードと曝露評価）が中心である。2009年までに事前登録が期待される180,000物質における70%の試験を2011～2017年に実施しなければならない。製造／輸入量に応じて実施すべき試験法が決まっており、1t以上の製造/輸入物質には代替法による有害性の同定が必要とされる。さらに製造量が増えるにつれて、曝露評価まで求められており、動物実験を有効に使っていかねばならない[5)]。

これらの問題に対応するため、欧州ではEPAA（European Partnership on Alternative Approaches to Animal Testing）という政府機関と業界団体の協調組織が設けられ、動物実験の3Rsに向け、着実に実現を積んでいる。さらなる代替法開発のため、300以上のパートナートと17の研究プロジェクト (予算110 million €以上)を通して[6)]、REACHのために“適した”100の試験法を確立する予定である。現在125 のINVITTOXによる プロトコールが用意されており、2009年までに40 試験法を検証するとされている。これにより、代替法で50%、in silicoで20%の動物数を削減できると専門家が分析している[7)]。

ただし、新規試験法が開発されても、「試験法の公定化」となると国際的な相互承認という厚い壁が立ちはだかり、検証や第三者評価に時間と経費が掛かる。これまで通りの方法では2011年までに多くの試験法を用意できない。そこで、OECDやECVAM、

米国のICCVAM(Interagency Coordinating Committee on the Validation of Alternative Methods）中心に検証研究の短期化、検証が終了したものと同等のものを揃えるために適切な方法の選択をする方策が検討されている[8)]。

3. 日本の動向

日本でも欧米の影響を受けてはいるが、動物実験の3Rsに関しては社会的には問題化されていない。経済のグローバル化もあり、国際企業は対応に苦慮しているが、経済産業省が国際調整に乗り出す程ではない。一部の愛護団体が特定企業を攻撃しているが、それは本当に適切な行為とは言えない。国民のニーズがないこと、すなわち、行政に関心がないことを認識すべきである。

2005年にはJaCVAM（日本代替法検証センター）が設立された。しかし、厚生労働省が認めた部署は国立医薬品食品衛生研究所の中の新規試験法評価室であり、JaCVAMではない。JaCVAMとは新規試験法評価室の業務の一環として、この部屋を中心とする任意の協力者による活動である[9-11)]。この活動グループが2006年に組織されたのであり、JaCVAMという公的な機関は日本では存在しない。欧米では、法的にその活動が規定されているようなICCVAM[12)]、ECVAM[13)]という行政機関が存在するが、その規模、予算の違いは公的な認知の違いによる。よって、JaCVAMの活動は限定的にならざるを得ない。

4. 国内外の状況への対応

さて、もう一度、試験法の公定化について考えてみたい。化学物質等の安全性を確認するための試験法は国民の安全・安心の土台である。国際社会で生きていく以上、その試験法は国際的に統一されたものが必要であることは議論の必要がない。その代表がOECDテストガイドラインである[14)]。OECDテストガイドラインには昨今、大きな二つの流れがある。一つが動物福祉の

試験法の定義
・選択または開発
・詳細な解説の供与
・背景情報の収集

試験プロトコールの正確性と再現性の初期評価
・施設内評価
・初期の施設間評価
・プロトコールの洗練、最適化、最小化

試験プロトコールの正確性と再現性の広範な評価
・追加の施設間評価
・データの蓄積
・プロトコールの確定

総合評価と結論
・専門家による第三者評価
・バリデーション研究の結論
・推奨、・印刷

行政当局による評価および結論
・使用法の提案
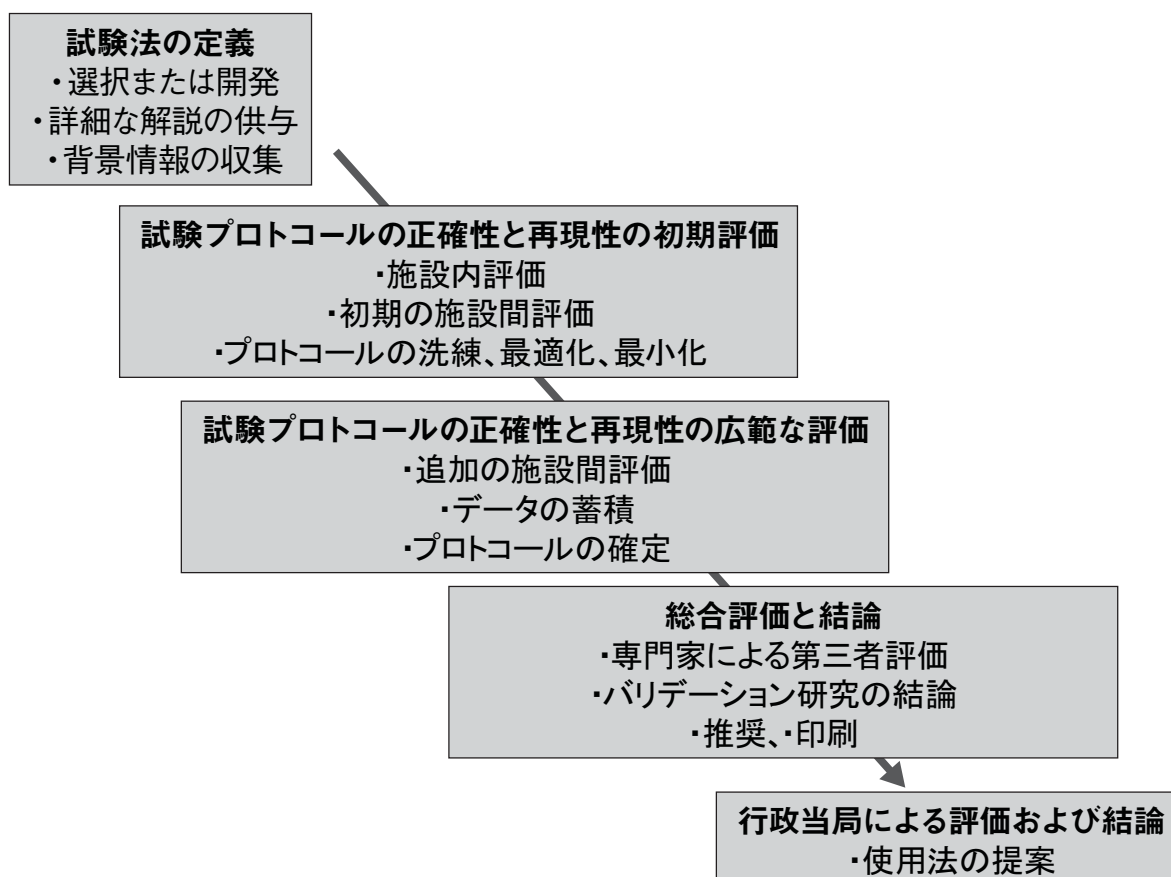
図1. 新規毒性試験法におけるバリデーションおよび行政受け入れの過程
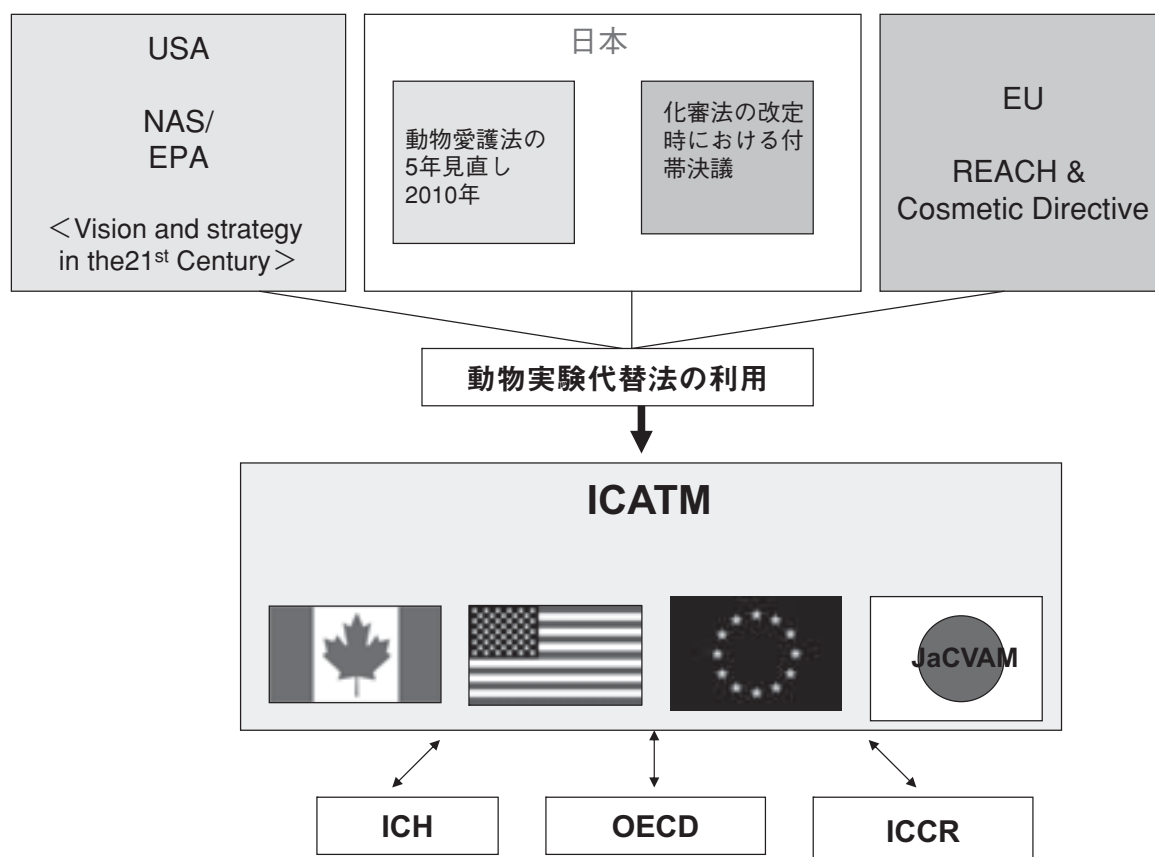
図2. 昨今の国際組織

影響を受けた試験法の見直しである。動物実験の3Rsに配慮して試験法の統合（慢性毒性試験と発がん性試験の統合など）や代替法がガイドラインに提案される場合が多くなっている。二つ目がOECDガイダンス文書No.34に示されている試験法の検証・評価である[15]。試験法公定化までの道程を図1に示すが、動物実験も含め、新たに開発される試験法は検証研究や第三者評価を受けなければならないと、この文書は謳っている。このOECDテストガイドラインの潮流に沿って試験法が開発されるとすれば、代替法中心に検証研究や第三者評価が行われることは必然である。

日本ではこの試験法の公定化のために、新規試験法評価室に予算が付き、JaCVAMの種ができたことは評価して頂きたい。ただし、日本の活動が限定的であることから、このままでは欧米で開発され検証・評価された“特許で守られた代替法”を受入れるばかりとなる。

そのような動向の中、本年4月にICATM（International Cooperation on Alternative Test Methods）が設立された[16]。国際的な代替法の協力組織として、NICEATM（National Toxicology Program Interagency Center for the Evaluation of Alternative Toxicological Methods）/ICCVAM、ECVAM/ESAC（ECVAM Scientific Advisory Committee）、Health Canadaそして JaCVAM合わせて4局の上部組織が合意した。この組織の目的は国際的な検証研究の推進、専門家による第三者評価の合同開催、さらに行政的な試験法の受入れの加速である。簡単に言えば、代替法のOECDテストガイドラインの早期成立である。JaCVAMは過去に検討された代替法も含め、日本で開発された試験法の公定化を進めているが、図2に示すように、今後、このICATM組織の中で、国際的な協調を図りながら、広範な試験法において、迅速な公定化に向け努力することとなる。

さらに、日本では本年に改定

された化審法において、その付帯決議の中でin silicoや代替法の活用について記載されている[17)]。欧米の流れを受け、わずかながら社会的なニーズが増している。2010年に見直しがなされると言われている「動物の愛護及び管理に関する法律」で実験動物に関する動向が注目されている[18,19)]。

このような状況に鑑み、新規試験法評価室として組織の見直しや人員増、予算の増額を厚生労働省および総務省、財務省に求めている一方、経済産業省、環境省、農林水産省などの他省庁との連携や、トキシコロジー学会、日本動物実験代替法学会、日本環境変異原学界等の学会および関連した業界団体との協力関係をこれまで以上に深めていきたい。この機会にJaCVAMを中心に、オールジャパンで対応する体制を整える必要がある。この機会を逃せば、試験法の確立という応用研究でも我々は世界に歯が立たなくなってしまうと考えている。

5. 終わりに

2009年秋に韓国およびブラジルに代替法検証センターの設立が決まった。ますます代替法の国際化が進むとともに、試験法の公定化を巡って混沌とした状況が続く可能性がある。ICATMができた理由を前述したが、実は代替法を巡る国際間の無駄な労力を緩和することが本音部分の理由である。このICATMを通して、我々は欧米カナダに加え、韓国、ブラジルとも良好な関係を築いていきたい。さらにOECD加盟国との調整を円滑に進め、JaCVAMのそして、オールジャパンの存在感を国際的に示していきたいと考えている。

参考文献

1）National Academy Science (2007) Toxicity Testing in the 21st Century: A Vision and a Strategy http://www.cof.orst.edu/cof/teach/agbiotox/Readings%202008/Toxicology-21stCentury-NAS-2007.pdf#search='NAS%20toxicology%20vision%20strategy'
2) Commission Staff Working Documents(2004) Time Tables for the phasing-out of animal testing in the framework of the 7th Amendment to the Cosmetics Directive (Council Directive 76/768/EEC); EN, SEC82004,1210
3） ECB(2009) http://ecb.jrc.ir/REACH/
4）ECH （2009） http://ec.europa.eu/echa/home_en.html
5) EPAA （2009） http://ec.europa.eu/enterprise/epaa/brochure.htm
6） EC (2009) Alternative Testing Strategies, EUR22846
7) Hartung, T.(2006) http://wwwsoc.nii.ac.jp/jsaae/20kai.html
8) JRC (2009) http://www.vet.uu.nl/nca/userfiles/other/ REACH
9) 大野泰雄（2004）動物実験代替法のバリデーション方法と行政的受入れの現状、国立衛研報、122、1-10
10) 小島肇夫（2006）動物実験代替に関する最近の動向、化粧品技術者会誌、40(4)263-268.
11) 小島肇夫（2008）安全性評価と動物実験代替法の現状、薬学雑誌、128（5）747-752.
12) ICCVAM(2009) http://iccvam.niehs.nih.gov/docs/ocutox_docs/EPreport/ocu_report.htm
13）ECVAM (2009) http://ecvam.jrc.cec.eu.int/index.htm
14）OECD (2009) http://www.oecd.org/document/55/0,3343,en_2649_34377_2349687_1_1_1_1,00.html
15) OECD (2005) OECD Series on testing and assessment Number 34, Guidance document on the validation and international acceptance of new or updated test methods for hazard assessment, ENJ/JM/MONO(2005) 14
16) ICATM (2009) http://www.niehs.nih.gov/news/releases/2009/pttw.cfm
17) 化審法改正法案に対する附帯決議（2009） http://www.env.go.jp/chemi/kagaku/kaisei21/futai21.pdf
18)動物の愛護及び管理に関する法律(2008) http://www.env.go.jp/nature/dobutsu/aigo/amend_law2/law.pdf
19)実験動物の飼養及び保管並びに苦痛軽減に関する基準(2008) http://www.env.go.jp/nature/dobutsu/aigo/law_series/nt_h180428_88.html

ウルグアイ

海外散歩

ウルグアイ（モンテビデオ）

北海道大学大学院獣医学研究科
（ICLAS理事、Co-chair of ICLAS Asian Region）
教授　鍵山直子

はじめに

ICLASの理事会（2009年6月1〜2日）およびICLASが共催する第3回中・南米合同の実験動物学会（6月2〜5日、うち3〜4日のみ聴講）に出席するため、ウルグアイの首都モンテビデオに出張した。中・南米合同の実験動物学会とは、中米諸国、カリブ、メキシコを活動範囲とする実験動物学会ACCMAL（Associations of Central America, Caribbean and Mexico Laboratory Animal Science）と、実験動物学のスペシャリストによる南米の学・協会の連合FESSACAL (Federation of South American Societies and Associations of Laboratory Animal Specialists)の共同開催による学術集会である。

難行苦行

5月30日に出国し6月6日に帰国したのだが、このうちの4日間は移動に消えてしまった。往路は成田→ニューヨーク→ブエノスアイレス→モンテビデオ、復路はモンテビデオ→マイアミ→ダラス→成田の航程だったが、乗り継ぎ時間も含め片道30時間の長丁場である。国を跨ぐごとに入国／出国審査と手荷物検査を受けるので、それだけでも大変だというのに、トラブルのおまけまでついた。アルゼンチン入国の際に、ブエノスアイレス空港のオフィサーがアメリカの出国カードは回収したものの、パスポートにスタンプを押し忘れたらしく、同じ空港だというのにウルグアイへの出国を認めてくれない。私の落ち度ではないといって食い下がり、ともかく主張は認められたがすでに出発時刻をすぎ、空港内をいやというほど走らされた。

この混乱はインフルエンザ騒動と関係あるのかもしれない。ブエノスアイレス空港に向けて着陸体制に入ってまもなく、swine flu対策が法制化されたとアナウンスがあり、入国カードとは別に問診票が配られた。着陸すると白衣の検疫官が乗り込んできて一人ひとりにマスクを手渡し、マスクをしないと飛行機から出してくれないという。私は日本出国時にマスクを持ち込んでいたので、今度は褒められてしまった。ちなみに問診票のチェック項目は発熱、咳、呼吸困難、下痢、嘔吐、発疹、頭痛、筋肉痛、出血。それになぜか黄疸を加えた10項目であった。

帰国時の成田でも同様なことが起こった。法36条第3項に基づき、発熱、鼻汁、鼻づまり、のどの痛み、発咳の有無、それに現地で治療を受けたか否か、発熱・発咳のある人と接触したかを問診票に記入しなければならない。該当者は、留め置かれた機内に乗り込んできた検疫官のインタビューを受けるのだが、私の周りにそのような乗客はいなかった。全員、問診票を空港内の窓口に提出するのと引き換えに、

写真1 首都大聖堂(Iglesia Matriz)

帰国後7日間に異常があった場合の報告義務を課したイエローカードを持たされた。新型インフルエンザ蔓延国とされるアメリカを経由しただけなのに、このような面倒に巻き込まれてしまったと思われるが、実験動物とは異質な、まさに苦渋の感染症対策がうかがわれた。

お国柄が滲み出た学会

日本から見て真裏の国であるウルグアイとの時差はきっかり12時間、ブラジルとアルゼンチンに挟まれたラ・プラタ川の河口に位置する小国である。河と海の境がはっきりしないこのあたりの川幅たるや、向こう岸がまったく見えないほどである。車に乗り合わせたアメリカ人は海と間違えたが、水が茶色く濁っていたので私は川といい当てることができた。ウルグアイの公用語はスペイン語、通貨はウルグアイペソで、両替したときのレートが1USドル＝21.4ペソだったから、1ペソ＝4.5円くらいであろうか。

ウルグアイでは動物保護に関する法律は制定されているが、保護の対象に実験動物は含まれていない。動物実験に関する法令も有していない。しかし、国立ウルグアイ大学は率先して学内規程を策定し、動物実験委員会が実験計画を審査しているといっていた。FELASAの提案によるA、B、C、Dの4カテゴリーに沿って、実験動物・動物実験従事者を区分しているとのことである。ICLASは北米2カ国と中・南米諸国を合わせて“Americas Region”でくくり、Regional Committeeを設置しているのだが、ウルグアイにはスペイン系、イタリア系の国民も多いことから、多くの情報はヨーロッパから導入されているとみた。なお、ICLASはこの地域のニーズをかんがみて、スペイン語によるjournalの発行を計画している。Asian Regionに限定した共通語の可能性について問いかけられたが、英語にせざるを得ないと応えた。

写真2 独立広場(Plaza Indipendencia)のモニュメント
国連加盟140カ国がそれぞれデザインした友愛クマ(Buddy Bears)

今回、ICLAS、FESSACAL、ACCMALの合同学会が選んだテーマは“Biomodels applied in development and technology innovation”である。7つのPlenary Session、6つのSymposiumのほかにLecture、若手研究者による口頭発表、ポスター発表、そしてワークショップと、どうやらこの形式は地球を一周したようだ。使用言語は英語とスペイン語だから同時通訳のブースは大忙し。うわさには聞いていたが、何かにつけ開催時刻がままならない。朝一番のシンポジウムですら20分遅れ、一日最後のシンポジウムにいたっては、時間がきたというのにオーディエンスは私だけ。みんなドアの外でおしゃべりに夢中だ。第一、座長もおしゃべりしているのだから、ここは耐えるしかない。演者のアメリカ人は、最初はマイクの前でうろうろ、両手を広げ、肩をすくめる例の動作を繰り返していたが、最後はすっかり諦めたようだ。それでいていったん講演が始まると人が湧きだし、半分くらいの席が埋まるから何とも不思議な学会だ。このような国から日本にやってくる留学生は、まず几帳面な時間のやりくりにカルチャーショックを受けるのではないかと、わが大学を思い出しつつ、あらぬ心配までしてしまった。

ICLAS理事会

発展途上国の支援はICLASのミッションのひとつであることから、理事の私は毎年のように長旅を強いられている。ICLASの理事会にはDemers会長(Canadian Council for Animal Care)を筆頭に12人が出席した。ICLASは加盟国の代表(National Member)、加盟学術団体(Scientific Member/Union Member)、そして維持会員(Associate Member)で組織され、2006年6月時点での加盟機関・団体数はそれぞれ36、52、37、合計125である。今期(2007〜2011年)に特化した事業計画(Initiative)に、1)動物実験ガイドラインのハーモナイゼーション、2)実験動物の品質管理のためのネットワーク構築(Animal Quality Network Program)、3)CIOMS Guiding Principlesの改定協力、4)OIEとの連携の4つがある。

1)ハーモナイゼーション

動物実験ガイドラインの国際ハー

モナイゼーションはきわめて重要なことであるという認識のもとで、各国がガイドラインを作成する時のよりどころ（Principles）として次の5項目が事業計画に取り上げている。

Principles for establishment of humane endpoints（人道的エンドポイント）

Principles for animal euthanasia（安楽死処置）

Principles for animal user training programs（ユーザー教育）

Principles for experimental protocol reviews（実験計画の審査）

Principles for the care and use of genetically engineered animals（遺伝子改変動物の管理と使用）

人道的エンドポイントと安楽死処置は結果がすでに公表され（Demers G, et al. 2006. Harmonization of Care and Use Guidance. *Science* Vol 312, 700-701.）、ユーザー教育と実験計画の審査は*Laboratory Animals*誌への掲載が決定している。遺伝子改変動物の管理と使用に関しては、来年の理事会にかけるべく準備が進んでいる。

2）品質管理ネットワーク

希望する検査機関にマスキングした病原菌と抗血清（検体）をICLASが有償で提供する。入手したら自機関の検査法を用いて同定する。後日ICLASから正解が送られてくるので、それと照らし合わせてそれぞれ自主的に検査法の精度と特異性を評価するというサービスである。検体の準備はアメリカのチャールスリバー社とミズーリ大学が受け持っている。日本からは実中研のモニタリングセンターが試行に参加し、その結果を公表した(Goto K, et al. 2009. First trial in the developmental phase of the "Performance Evaluation Program" based on the ICLAS Animal Quality Network Program: Self-assessment of microbiological monitoring methods using test samples supplies by ICLAS. *Exp*. Anim. 58, 47-52)。アジア地区担当理事として、今後、日本を含むアジア地域の検査機関に対し普及を図ってゆく所存である。本件に関する質問はkagiyama@vetmed.hokudai.ac.jpまで。

3）CIOMSの原則の見直し

1985年に採択した国際原則International Guiding Principles for Biomedical Research Involving Animalsを現状に合わせて改定する動きがCIOMSにもちあがっている。そこでCIOMSは、実験動物学のエクスパート集団であり、アンブレラ・オーガニゼーションであるICLASに協力を求めてきた。ICLASは申し出を受理し、2008年に準備のための初会合を開き、作業部会を組織して見直し作業に当たることを決定した。現在、作業部会のメンバーとして、イタリア、アメリカ、スイス、オーストラリア、アルゼンチンおよび日本の関連団体・組織に所属する8名が候補者としてノミネートされている。日本からはJALAS/AFLAS関係者1名に参加をお願いする予定である。

CIOMS: Council for International Organizations of Medical Sciences 国際医学団体協議会

4）OIEとの連携

各国の行政機関をつなぐリエイゾン組織であるOIEは、人を対象とするWHOと同様な使命のもと、国際的視点で動物の健康と福祉の問題を取り上げてきた。日本では農林水産省が担当行政機関と推察される。福祉に関しては家畜を中心に、特に輸送条件の改善に関心が高いのだが、実験動物の福祉問題にも踏み込みたいとの意図のもとで2007年のICLAS総会に委員を派遣し、ICLASに協力を求めた。おそらくEU側の圧力があったのだろう。ともあれICLASはこの申し出を受理し、協力体制に関しOIEとICLASは2008年にパリで合意書を交わした。

OIE: L'Office International des Epizooties / International Epizootic Office 国際獣疫事務局（世界動物保健機関）

おわりに

どの観光案内書にもウルグアイの美しい砂浜が紹介されている。そうでなくとも、ラテンアメリカと聞けば汗ばむような熱気を連想するであろうが、日本の12月初旬に相当するこの時期、6月2日の未明には木枯らし一番のような寒風が吹き荒れ、街路には落ち葉が舞った。翌3日は快晴であったが気温は10度、風が止まない。手袋を忘れたことを悔やんだ。長い昼休みを利用し、コートの襟を立てつつ旧市外を探索した（写真1〜3）。

写真3 これが茶器？（マテ茶用）。

実験動物医学への招待

順天堂大学大学院医学研究科アトピー疾患研究センター
久原孝俊

◆ プロローグ

2009年1月22日夜、わが国最古の医科大学の古い一室に、4人の初老の学徒が集った。“Laboratory Animal Medicine 2nd Ed.”（Academic Press, 2002）[1]「実験動物医学 第二版」（以下、「実験動物医学」）を読むためである。

2005年、わが国の「動物の愛護及び管理に関する法律」（以下、「動物愛護法」）が改正され、2006年6月1日から施行された。2005年に改正された「動物愛護法」には、国際的に広く普及している、動物実験におけるRussellとBurchの3R（“Replacement”「代替法の利用」、“Reduction”「使用動物数の削減」、“Refinement”「苦痛の軽減」）の原則[2]が明確に記載されている。「動物愛護法」の改正にともない、環境省は「実験動物の飼養及び保管等に関する基準」を「実験動物の飼養及び保管並びに苦痛の軽減に関する基準」（以下、「基準」）へ改正し、文部科学省（以下、「文科省」）、厚生労働省（以下、「厚労省」）、農林水産省は、「研究機関等における動物実験等の実施に関する基本指針」などいわゆる「基本指針」を告示した。また日本学術会議は、文科省および厚労省からの依頼に対応して、「動物実験の適正な実施に向けたガイドライン」（以下、「ガイドライン」）を作成した。動物実験をおこなうにあたっては、これら関連法規（告示を含む）を遵守しなければならない。

「基本指針」や「ガイドライン」には、動物実験を実施する各機関等において、機関等の長は、「動物愛護法」、「基準」、「基本指針」、およびその他の関連法規（告示を含む）の規程をふまえて、機関内規程を策定すること、と記載されている。日本学術会議が作成した「ガイドライン」は、各機関等が機関内規程を策定する際の雛形となるものである。

動物実験計画書の作成あるいは動物実験の実施にあたっては、実験責任者あるいは実験実施者は、実験動物が被る苦痛の程度を客観的に判断し、その判断にもとづいて、苦痛軽減のための適切な措置を講じることがきわめて重要である。実験動物が被る苦痛の程度を客観的に判断することは、きわめて困難なことであるが、日本学術会議の「ガイドライン」には、SCAW*の「苦痛分類」[3]を参照すべきであると記載されている。SCAWの「苦痛分類」については、すでに1988年に、日本実験動物協会の「実験動物 海外技術情報」誌No.7（1月20日号）[4]に筆者が日本語訳を紹介した（その後、本誌第29号[5]にも紹介した）。当時は、ちょうど文部省国際学術局から「大学等における動物実験について」（1987年）が所管の機関に通知され、各機関において動物実験指針が作成されていた時期であり、このSCAWの「苦痛分類」の日本語訳がわが国の多くの機関において活用されたことは、よろこばしいことであった[6-11]。またその後、わが国においても、黒澤らがSCAWの「苦痛分類」にもとづいた「苦痛による生命科学実験分類」を示している[12]。

現在、「動物愛護法」の改正に

---

* Scientists’ Center for Animal Welfare：動物福祉を推進するために、1979年にカナダおよび米国の科学者によって設立された機関である。SCAWは、動物実験委員会の活動を援助し、動物福祉に関する会合、教育プログラムを主催している。

ともない、「基本指針」や「ガイドライン」にもとづいて、わが国の多くの機関において、動物実験のための機関内規程が新たに策定され、あるいは、現在策定されつつあるところである。

一方、気にかかることは、わが国において遺伝子改変動物の福祉に関する規程や文献、資料等が少ないことである。今日の遺伝子改変動物の爆発的増加とその使用を考えるとき、われわれは、遺伝子改変動物の福祉について考慮しないわけにはいかない。遺伝子を人為的に操作して疾患モデル動物を作製することは、きわめて困難かつ重大な倫理的問題をわれわれに投げかけている。遺伝子改変動物の福祉に関しては、きわめて注意深い考察が必要であろう。そのためには、「遺伝子改変マウス作出における洗練および削減」[13, 14]が大きなヒントを与えてくれる。

さらに昨年（2008年）からは、わが国においても、第三者による動物実験施設（およびその管理等）の検証や認証が始まりつつある。このような背景において、動物福祉に配慮した、さらに適正な動物実験を実施するためには、各機関における動物実験委員会の果す役割がますます重要なものになってくるものと思われる[5-7]。

このような大きな流れの中において、動物福祉に配慮した適正な動物実験を推進するためには、実験動物の獣医学的管理および動物実験委員会における獣医師、とくに実験動物医学に精通した獣医師の役割もさらに重要になってくるであろう。わが国においては、前島一淑（元慶応義塾大学医学部）、笠井憲雪（東北大学医学部）、黒澤　努（大阪大学医学部）らの尽力により、1993年、実験動物医学研究会が組織され、その後1996年には、日本実験動物医学会と改称され、わが国における実験動物医学の発展に大いに寄与してきた。

しかし翻って見るに、わが国には実験動物医学に関するよい資料が少ない。そこで、上記4人の学徒が集まり、定期的に「実験動物医学」を読み、その要点をわが国の実験動物や動物実験にかかわる人々にわかりやすく紹介することを企画した。本稿は、「実験動物医学」を翻訳したものではない。「実験動物医学」を読んで、その内容（梗概）を自由にまとめたものである。「実験動物医学」は、全32章からなる大部の書籍である。はたして、本連載が幾星霜を経て完結するのか、現時点では想像することすらできない。

江戸時代中期の蘭医杉田玄白は、齢83にして「蘭学事始」（1815）を著した。われわれ初老の学徒も「蘭学事始」の顰に倣い、「LAM学事始」を本誌に連載することとした。LAMは、もちろん、Laboratory Animal Medicine（実験動物医学）の謂である。本連載は、以下の4名が交代で執筆する予定である。金井孝夫（東京女子医科大学医学部）、池田卓也（日本チャールスリバー）、久和　茂（東京大学農学部）、久原孝俊（順天堂大学医学部）。本連載がわが国における実験動物医学の発展に聊かでも寄与し、さらに実験動物に対する福祉向上に貢献することの一助となれば幸いである。

◆ 第1章

実験動物医学：歴史的概観

1. はじめに

まずはじめに、5つの重要なキーワードをみてみよう。

動物実験（animal experimentation）：動物を用いた実験。通常は、新しい生物学的知見を得るため、または医学的、獣医学的、歯学的もしくは生物学的課題を解明するために、実験室内にておこなわれる。

実験動物ケア**（laboratory animal care）：獣医学および動物科学を実験動物の入手、

** 筆者注：“care”という英語は「管理」と訳されることが多いが、“care”には単に「管理」のみではなく、さらに広く、傷害、疾病の治療や疼痛の軽減、さらには愛護や福祉などの意味も含まれるものと解される。そこで本稿では、「実験動物管理」ではなく、「実験動物ケア」という訳語を用いることにする。ただし、意味に応じて、「管理」と表記したところもある。

栄養、繁殖、および疾病などの管理のために応用すること。またこの用語は、傷害や疼痛の管理にも関係している。

実験動物医学（laboratory animal medicine）：獣医学の一分野であり、医学生物学研究の分野において使用される動物の病気の診断、治療、および予防などにかかわる専門分野であると認識されている。また実験動物医学には、研究において使用される動物の苦痛を軽減する方法も含まれる。

比較医学（comparative medicine）：人間、動物、および植物における異常な構造や機能の特性、原因、あるいは治療法について研究し、それらの結果をあらゆる生き物のために応用する学問分野。

実験動物科学（laboratory animal science）：実験動物ケアおよび実験動物医学の両方にかかわる科学的および専門的情報、知識、および技術の体系。

実験動物医学は、急速に発展してきた。なぜなら、実験動物医学は科学的に重要であるばかりでなく、一般の人々にとっても、実験動物にできるかぎり最善のケア（実験動物ケア）を提供することが重要であるからである。以下、実験動物医学がどのように発展してきたか、そして実験動物医学と他の分野の生物学や医学との関係について記載する。

2. 動物実験の起源

最初の動物実験は、古代ギリシアのアリストテレス（Aristotle: 384-322 B.C.）の時代に遡る。アリストテレスは、生物学の創始者として知られており、初めて、多くの動物を解剖し、動物の種によって内臓の構造が異なることを示した。おそらく、エラシストラトス（Erasistratus: 304-250 B.C.）は、初めて、生きた動物を用いて動物実験をおこない、ブタにおいて、気管が空気の通路であり、肺が空気の入った器官であることを示した。その後、ガレノス（Galen: A.D. 130-200）は、ブタ、サル、その他多くの動物種の解剖をおこなった。ガレノスは、実験にもとづいた結果のみが科学の発展に結びつくと考えていた。中世になると、解剖は教会によって禁止された。16世紀になると、近代解剖学の創始者Andreas Vesalius（1514-1564）は、イヌやブタを用いた解剖を公開した。1628年、William Harveyは、動物における心臓と血液の動きに関する研究を発表した。1800年代に入ると、フランスが実験生物学および医学の中心となった。たとえば、実験生理学者のFrançois Magendie（1783-1855）やClaude Bernard（1813-1878）、微生物学者の Louis Pasteur（1822-1895）らが動物実験を含む科学的方法の確立に大きく貢献した。Bernardは、その著「実験医学序説」（1865）の中で次のように述べている。

・・・それぞれの実験処置に適した解剖学的構造あるいは生理学的特性を有する動物を選ぶことが肝要である。実験ごとに、注意深く適切な動物を選択しなければならない。このことは、きわめて重要である。生理学的あるいは病理学的な課題を解決できるか否かは、ひとえに、実験目的に適った動物を選択することにかかっている。すなわち、適切な動物を選ぶことによって、明確な結果が得られるのである。（久原試訳）

一方Pasteurは、さまざまな動物において、感染症の研究をおこなった（たとえば、カイコ：微粒子病、イヌ：狂犬病、ヒツジ：炭疽など）。Pasteurらは、動物の疾病を研究することによって、動物が利益を受けるのみならず、ヒトの疾病の病態を解明することもできるものと考えていた。動物実験を含む実験的な研究によって、医学研究は「黄金時代」を迎えることとなった。他方、科学の研究において動物を使用することに対する批判も沸き起こって来た。1824年に初めて、英国において、動物愛護協会（動物虐待防止協会：SPCA）が設立され、その後1860年代には、米国各地において相次いで動物愛護協会が設立されていった。

その遠因の1つとして、Charles R. Darwinが「種の起源」（進化論）を発表し（1859年）、ヒトと動物との境界（相違）が不分明になってきたという時代背景を見逃すことはできない。

3. 初期の実験動物医学の分野における獣医師

米国において初めて（1879年コーネル大学にて）獣医師免許を与えられたDaniel E. Salmonは、細菌感染症について研究をした。サルモネラ（*Salmonella*）菌は、彼の名をとって命名された。1915年、Simon D. Brimhallは、米国おいて初めての実験動物医学専門の獣医師としてロチェスターのメイヨー・クリニックに赴任した。Brimhallは、動物施設の管理、実験動物コロニーの樹立、実験動物の疾病の研究、他の研究者との共同研究および自身の研究などに従事した。1924年、Carl F. Schlotthauerがメイヨー・クリニックの獣医学部門の助手として採用された。その後（1952年）、Schlotthauerは獣医学部門長となり、同時に、ミネソタ大学獣医学部教授を兼務した。彼は、米国における実験動物医学関連の最初の教授となった。Schlotthauerは、動物実験反対活動家に積極的に対抗し、1950年には、ミネソタ州において「動物管理センター法」が採択されるために尽力した。「動物管理センター法」のもとでは、動物管理センターに収容され、引き取り手のいないイヌやネコを、承認された研究機関において研究や教育のために使用することが認められる。Schlotthauerは、医学研究者と動物愛護団体の人々が話し合いをすることが重要であると考えており、ミネソタ動物愛護協会の理事も長年にわたって務めた。彼はまた、米国実験動物学会（American Association for Laboratory Animal Science: AALAS）の草創期において理事として重要な役割を果した。

世界的によく知られていた疫学者Karl F. Meyerは、1928年に実験動物の病気に関する総説を著した。またCharles A. Griffinは、無菌動物作製技術が確立するはるか以前に、疾病のない実験動物コロニーを樹立することの必要性を唱え、1940年代には、パスツレラ感染症のないウサギコロニーを確立した。

Nathan R. Brewerは、1945年から1969年にわたって、シカゴ大学の動物実験施設長を務めた。大学当局は、獣医師が動物実験施設長を務めることによって、実験動物ケアや動物実験技術が改善され、その結果、動物実験反対過激派による攻撃をやわらげることができるものと考えていた。Brewerによって、実験動物医学は大きく発展し始める。彼は、米国実験動物学会（AALAS）の誕生に大きな役割を果し、1950年から1955年にわたって、初代AALAS会長を務めた。

4. 実験動物科学に関連する組織

A. 米国医学研究協会（National Society for Medical Research: NSMR）

米国医学研究協会（National Society for Medical Research: NSMR）は、1946年に米国医科大学協会（Association of American Medical Colleges: AAMC）によって設立された。AAMCは、とくに、動物実験の必要性を一般の人々に理解させることが重要であると考えていた。NSMRの本部は、シカゴに置かれ、Anton J. Carlsonが初代会長を務めた。NSMRは多くの活動をおこない、その結果、動物管理センターに収容され、引き取り手のいないイヌやネコを実験に使用することができるようになった。1952年4月15日、ミシガン大学生理学教授のRobert Gesellは、米国生理学会の会議において、世間の注目を集めることになる発表をおこなった。Gesellは、NSMRが実験動物の人道的な使用に配慮しておらず、科学の名の下に動物を虐待していると表明し、NSMRを激しく攻撃した。Gesellは、当初、NSMRの設立に協力したが、やがて、初代会長のCarlsonと意見を異にするようになっていった。Gesellの発表は、大きな議論をひき起こしたが、その2日後の会議において、米国生理学会はGesellの発表を正式に却下した。1954年にGesellが亡くなった後、Gesellの娘Christine Stevensは、動物福祉協会（Animal Welfare

Institute; 1950年設立）の設立者・会長として、父Gesellの遺志を継いだ。1980年代に入ると、NSMRは医学生物学研究協会（Association for Biomedical Research: ABR; 1979年設立）と合併して、米国医学生物学研究協会（National Association for Biomedical Research: NABR）となった。NABRの初代会長には、Edward C. Melbyが選任された。

B. 米国実験動物学会（American Association for Laboratory Animal Science: AALAS）

1949年頃、シカゴ地区の大学や研究機関において、5名の獣医師（シカゴ大学：Nathan R. Brewer；イリノイ大学：Elihu Bond；ノースウエスタン大学：Bennett J. Cohen；アルゴンヌ国立研究所：Robert J. Flynn；ヘクトン医学研究所：Robert J. Schroeder）が動物実験施設を管理していた。これらの5名の獣医師は、1949年の夏から月に1回ほど集まって、実験動物の飼育、疾病、あるいは動物実験反対運動などに関する情報交換をおこなっていた。やがて、この会議には、シカゴ地区以外のさまざまな分野の専門家が参加するようになっていった。1950年5月、上記シカゴの5名の獣医師は、実験動物に関する国レベルの組織を設立することを提案する手紙をカナダおよび米国の関係者に送った。その提案に賛同する多くの返信が寄せられ、1950年11月28日、75名の参加者を得て、第1回の会議がシカゴにて開催された。この組織の創設者たちは、組織の名称を動物管理委員会（Animal Care Panel: ACP）と名づけた。初代の会長には、Brewerが選ばれた。ACPの初期の演題には、動物コロニーの管理、動物施設・設備の設計、一般的な疾病に関するものが多かった。ACPの年報*Proceedings of the Animal Care Panel*は、会誌*Laboratory Animal Care*となり、その後、*Laboratory Animal Science*と改称された。ACPは、初期の頃から、実験動物技術者の教育にもかかわってきており、1967年には、「実験動物技術者のためのマニュアル」“Manual for Laboratory Animal Technicians”の初版を作成した。ACPはまた、基準の作成にも尽力した。「実験動物施設と実験動物の管理に関する指針」“Guide for Laboratory Animal Facilities and Care”（後の「実験動物の管理と使用に関する指針」“Guide for the Care and Use of Laboratory Animals”）の初版は、ACPの指導のもとに作成され（1963年）、これらの指針は、米国の研究機関における実験動物のケアと使用に関する基本的な基準となった。1967年、動物管理委員会（Animal Care Panel: ACP）という名称は、米国実験動物学会（American Association for Laboratory Animal Science: AALAS）に改称された。またその後、会誌の名称も*Laboratory Animal Science*から*Comparative Medicine*へと改称された。

C. 実験動物資源協会（Institute of Laboratory Animal Resources: ILAR）

第二次世界大戦後、医学生物学研究の分野における実験動物の標準化、供給などに関する諸問題が全米科学アカデミー（National Academy of Sciences: NAS）内に沸き起こっていた。そのような背景において、NASの諮問機関の1つである米国学術研究会議（National Research Council: NRC）のPaul Weissは、1952年、動物資源委員会を立ち上げた。Weissは、ジャクソン研究所の創設者であるClarence Cook Littleをその委員長に任命した。動物資源委員会は、動物資源協会（Institute of Animal Resources: IAR）を設立することを勧告した。IARは、1953年に活動を開始した。IARは、1956年、その名称を実験動物資源協会（Institute of Laboratory Animal Resources: ILAR）に改称し、さらに1990年代の後半には、実験動物研究協会（Institute of Laboratory Animal Research: ILAR）に改称した。IARの初代会長は、Orson Eatonが務めた。次いで、Berton F. Hillが10年間（1955～1965年）にわたって会長を務めた。Little、Eaton、Hillは、いずれも遺伝学者である。1965年には、Robert H. Yagerが会長に

なった。Yagerは、1952年の動物資源委員会の委員であり、ILARの創設メンバーのひとりでもある。ILARは、多くの重要な活動を展開してきたが、なかでも、実験動物医学の教育、訓練に関する初めての指針の作成（1967年）、米国における動物実験施設の調査およびその公表、国際実験動物科学会議（International Council on Laboratory Animal Science: ICLAS; 当時（1979年まで）は、国際実験動物委員会：International Committee on Laboratory Animals: ICLAとよばれていた）を通した国際的な活動などがとくに重要である。初期の頃は、ILARとAALASの活動は重複するところが少なくなかった。1962年、ILARおよびAALASのそれぞれの執行委員会は、ILARが諸基準の作成を分担するということに合意した。

D. 米国実験動物医学協会（American College of Laboratory Animal Medicine: ACLAM）

1957年、米国獣医師会の1つの分科会として、米国実験動物医学委員会（American Board of Laboratory Animal Medicine: ABLAM）が設立された。1961年には、その名称は米国実験動物医学協会（American College of Laboratory Animal Medicine: ACLAM）に改称された。ACLAM設立の目的は、実験動物医学の教育、訓練、研究を推進し、実験動物医学専門家の資格の基準を定め、そして実験動物医学専門家の認定試験をおこなうことであった。今日では、実験動物医学専門家の役割は充分に理解されているが、1950年代初期においては、漠然としたものであった。1952年6月23日、34名の獣医師がアトランティックシティーに集まり、実験動物ケアにおける獣医師の役割について話し合いがなされた。それらの協議にもとづいて、Nathan R. Brewerを委員長とする「実験動物の医学的管理に関する委員会」（“Committee on the Medical Care of Laboratory Animals”）が設立された。その後4年間ほどの間に、「実験動物医学」“Laboratory Animal Medicine”という用語が使われるようになってきた。またこの間に、実験動物専門の獣医師たちは、それぞれの機関において、実験動物医学部門や比較医学部門などの部門を立ち上げていった。1956年の終わり頃には、「実験動物の医学的管理に関する委員会」は解散し、やがて米国実験動物医学委員会（ABLAM）が誕生することになった。

5. 実験動物医学の教育および訓練

1957年に米国実験動物医学協会（ACLAM）の前身である米国実験動物医学委員会（ABLAM）が設立されると、獣医学部卒業後における実験動物医学の教育、訓練の必要性が強く認識されるようになっていった。1960年1月、ノースカロライナ州のボウマン・グレイ医科大学実験動物医学部門Thomas B. Clarksonの指導のもと、初めての実験動物医学の教育、訓練コースが始まった。同年7月には、カリフォルニア大学ロサンゼルス校（UCLA）医学部のBennett J. Cohenによって第2回目の教育、訓練コースが開催された。1962年には、Cohenはミシガン大学に移り、ひきつづき、実験動物医学の教育、訓練をおこなった。その後、米国各地において同様の教育、訓練がおこなわれるようになっていった。たとえば、トゥーレーン大学（1963年、K. F. Burns）、スタンフォード大学（1965年、O. A. Soave）、フロリダ大学（1965年、A. F. Moreland）、ジョンズ・ホプキンス大学（1968年、E. C. Melby）、ミズーリ大学（1968年、C. C. Middleton）などである。初期の教育、訓練プログラムの内容は、それぞれの指導教官の考え方によってまちまちであり、次第に実験動物医学の教育、訓練に関する指針を作成する必要性にせまれられてきた。そのような背景において、1964年、実験動物資源協会（ILAR）は、実験動物医学の教育、訓練に関するワークショップを開催し、1967年には最初の指針が公表された。現在では、米国実験動物医学協会（ACLAM）によって、実験動物医学の教育、認定プログラム

の評価、認証がおこなわれている。また、米国国立保健研究所（National Institutes of Health: NIH）も研究費を援助しながら、実験動物医学の教育、認定を積極的に支援している。1967年には、米国実験動物臨床獣医師協会（American Society of Laboratory Animal Practitioners: ASLAP）が設立され、実験動物医学の教育、訓練、研究等を推進している。今日では、ASLAPはACLAMとともに、獣医学部卒業後の実験動物医学の教育、訓練において重要な役割を果しており、実験動物医学は獣医学会や実験動物学会における主要な部門となっている。

6. 法規、指針等が実験動物医学に及ぼす影響

1966年以前には、米国には研究用の動物の入手や管理を規制する国レベルの法律は存在しなかった。米国人道協会（Humane Society of the United States）、動物保護法制定協会（Society for Animal Protective Legislation）、動物福祉協会（Animal Welfare Institute）などの動物福祉機関は、1950年代の後半から1960年代の初めにかけて、動物福祉のための法律を制定することを標榜していた。それに対して、米国実験動物学会（American Association for Laboratory Animal Science: AALAS）、米国医学研究協会（National Society for Medical Research: NSMR）、米国実験生物学会連合（Federation of American Societies for Experimental Biology: FASEB）などの学術団体は、各機関における動物実験委員会や米国実験動物愛護認定協会（American Association for Accreditation of Laboratory Animal Care: AAALAC；1990年代中頃に国際実験動物愛護評価認定協会（Association for Assessment and Accreditation of Laboratory Animal Care International: AAALAC International）に改称された）などの活動をとおして、各機関における動物実験の自主管理をさらに徹底することが最善の方策であると主張し、法規によって動物実験を規制することには異を唱えた。その後、議会での一連の公聴会を経て、1966年、実験動物福祉法（Laboratory Animal Welfare Act）が制定された。実験動物福祉法は、米国農務省（U.S. Department of Agriculture: USDA）が所管し、各機関における実験動物の獣医学的管理が法的に要求されることとなった。その後、実験動物福祉法は、さらに対象動物を拡大し、動物福祉法（Animal Welfare Act）に改称された。

米国国立保健研究所（NIH）は、長い間にわたって、適切な研究を実施するためには、健康な実験動物を適切に飼育管理することが重要であると考えてきた。1963年、NIHは「実験動物施設と実験動物管理の指針」（“Guide for Laboratory Animal Facilities and Care”）の初版を発行した。その後、この指針は実験動物研究協会（ILAR）による数次の改訂を経て、現在では「実験動物の管理と使用に関する指針」（“Guide for the Care and Use of Laboratory Animals”）（以下、「ガイド」）として流布している。1963年以来、NIHやその他の研究費供給機関は、研究費供給の条件として、各機関は「ガイド」の基準を遵守しなければならないと定めている。AAALAC Internationalも、施設認定のための基準として「ガイド」を利用している。USDAの動物福祉法と同様に、「ガイド」においても獣医学的管理の必要性が基本的要件となっている。

米国食品医薬品局（Food and Drug Administration: FDA）は、1978年、医薬品、食品添加物、その他の化学物質のための動物実験に関する基準「医薬品安全性試験実施基準」（“Good Laboratory Practice (GLP)”）を公表した。GLPにおいても、実験動物の疾病の適切な診断、治療、および統御の必要性が明記されている。

以上述べたように、AAALAC International、NIH、USDA、およびFDAすべてにおいて、実験動物の獣医学的管理の必要性が規定されている。

英国においては、1986年までは、動物の使用は「動物の虐待に関

する法律1876」（“Cruelty to Animals Act 1876”）によって規制されていた。1986年以降は、「動物（科学的処置）法1986」[15]（“Animals (Scientific Procedures) Act 1986”）が実験動物の使用を規制している。「動物（科学的処置）法1986」のもとでは、動物実験をおこなうためには、個人免許、プロジェクト免許、および施設認定証を取得しなければならない。米国の場合とは異なり、英国においては、法的な規制関係は政府（内務省）と科学者（個人）の関係になる（米国の場合は、政府と機関との関係になる）。したがって、機関の獣医師は、「動物（科学的処置）法1986」の施行に関する法的責任は有さない。

カナダにおいては、動物の使用は国レベルの法律によっては規制されていない。1968年、カナダ動物管理協会（Canadian Council on Animal Care: CCAC）が設立され、動物実験に関する研究を推進している。CCACの設立にあたっては、Harry Rowsellが重要な役割を果した。CCACは、「実験動物の管理および使用に関する指針」（“Guide to the Care and Use of Experimental Animals” (CCAC, 1980)）の基準にもとづいて、カナダの研究機関における動物管理を評価している。CCACの評価システムによって、カナダの動物管理の水準は向上し、また研究機関における獣医師の必要性も理解されるようになってきた。いくつかの州（たとえば、オンタリオ州、アルバータ州など）においては、研究における動物の使用を規制する法律が存在する。

引用文献

1) J. G. Fox, L. C. Anderson, F. M. Loew, F. W. Quimby Eds.: “Laboratory Animal Medicine 2nd Ed.” Academic Press, 2002.
2) W. M. S. Russell and R. L. Burch: “The principles of humane experimental technique”. Methuen, London. 1959.
3) Anonymous: Consensus recommendations on effective institutional animal care and use committees. Laboratory Animal Science. Special Issue, 11-13, 1987.
4) 久原孝俊：実験動物海外技術情報. No. 7（1月20日号）: 14-17, 1988.
5) 久原孝俊：LABIO 21. 29: 35-38, 2007.
6) 久原孝俊：アニテックス. 2: 232-247, 1990.
7) 久原孝俊：アニテックス. 4: 154-167, 1992.
8) 国立大学法人動物実験施設協議会：動物実験処置の苦痛分類に関する解説. 2004.
9) 久原孝俊：実験動物と環境. 16(2): 127-133, 2008.
10) 久原孝俊：実験動物技術. 43: 109-114, 2008.
11) T. Kuhara: Alternatives to Animal Testing and Experimentation 14, 721-722, 2008.
12) 黒澤　努, 大谷若菜：Alternatives to Animal Testing and Experimentation 8, 113-121, 2002.
13) V. Robinson, M. Jennings: “Refinement and Reduction in Production of Genetically Modified Mice”. Laboratory Animals. 37, Supplement 1, 2003 whole volume.
14) 久原孝俊, 久原美智子：“遺伝子改変マウス作出における洗練（refinement）および削減（reduction）”. アドスリー. 2006.
15) 久原孝俊：実験動物海外技術情報. No.17 資料：1-16,　1989.

参考文献

1. 杉田玄白：“蘭学事始”（野上豊一郎校註）岩波書店. 1942.
2. クロード・ベルナール：“実験医学序説”（三浦岱栄訳）岩波書店. 1975.

第3回

リコンビナント近交系：色あせないゲノムのモザイク

京都大学医学研究科附属動物実験施設
准教授　庫本高志

リコンビナント近交系の歴史

リコンビナント近交系(Recombinant inbred strain; RI系統) とは、異なった近交系間のF2に由来し、兄妹交配により独立して確立された一連の近交系のセットのことをいう（図1）。作出過程における遺伝型の分離が、近交化の過程でホモに固定されるため、永続的に利用できるマッピングパネルとして利用価値が高い。

RI系統のアイデアは、1950年代から60年代にかけて、ジャクソン研究所のDonald Baileyによって生み出された（図2）。彼は、BALB/cByとC57BL/6Byを親系統としたRI系統を7系統確立し、3つの毛色遺伝子座と8つの組織適合性抗原遺伝子座を同定した。マーカー遺伝子が全くといってなかった当時、一度に11遺伝子座を同定したことは驚異的な出来事であった。その後の5年間で、

図2　Donald W. Bailey
ジャクソン研究所提供

彼らのグループはマウスにおいて20の連鎖群を発見し、マウス連鎖地図の作成に多大な貢献を果たした。

図1　A系統とB系統を親系統としたリコンビナント近交系の作出
A系統のゲノムを黒色で、B系統のゲノムを白色で示す。F1のゲノムは全ての遺伝座でヘテロであるが、F2では、A/Aホモ、A/Bヘテロ、B/Bホモの遺伝子型が混在している。F2世代のなかからランダムに雌雄を選び、兄妹交配を20世代以上くり返すと、最終的に、A系統のゲノムとB系統のゲノムの混在した、しかし全ての遺伝子座はホモに固定している近交系が得られる。これらの近交系のセットをRI系統と呼ぶ。RI系統はセットとして用いることで、遺伝子座の同定に用いられる。

RI系統を用いる利点

RI系統では、親系統のゲノムがホモ接合の状態でランダムに混在し“モザイク模様”のようになっている。ひとつひとつのモザイクの境界は、組換えが生じた部位であり、それらを利用して連鎖解析を行うことができる。都合のいいことに、RI系統は近交系であるので、この“モザイク模様”は、世代をこえて複製される。さらに、同一系統内では、同じ“モザイク模様”をもつ個体を数多く得ることが
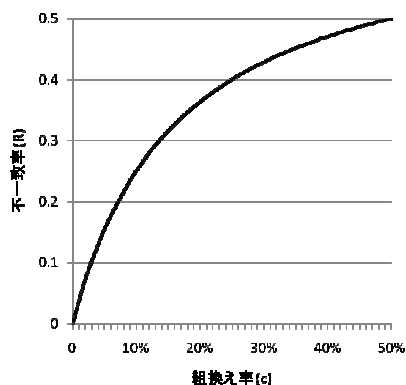
図3　組換え率(c)と不一致率(R)との関係
X軸に組換え率、Y軸にSDPの不一致率をとり式1の値をプロットしたもの。

できる。

ここにRI系統の利点がある。すなわち、あるRI系統セットの遺伝子型データは永続的に利用でき、タイピングが進むにつれ、どんどん蓄積される。一方、表現型のデータは、系統内の個々の個体のデータではなく、それらを群として扱った値（通常は平均値）を用いる。それゆえ、環境誤差や測定誤差の影響を排除でき、質的形質のみならず量的形質などのcomplex traitsの遺伝解析に適している。

このようなRI系統を自分で確立する必要はない。現在では、マウスやラットでさまざまなRIセットが確立されており、リソースセンターから入手可能である。

遺伝子座間の組換え率の求め方

染色体上で近接している遺伝子座が、ともに連鎖したままRI系統で固定されるか、組換えをおこして固定されるかは、遺伝子座の連鎖の度合い（組換え率; c）に依存する。

これら遺伝子座の組換え率 (c) は、最終的に確立されたRIセットにおける遺伝子型パターン (Strain Distribution Pattern; SDP) の不一致率 (R) で表すことができる。組換え率 (c) と不一致率 (R) との間には以下の関係がなりたつ（図3）。

$$R = \frac{4c}{1+6c} \qquad \text{（式1）}$$

組換え率cが非常に小さい場合は、以下のようになる。

$$R \cong 4c$$

組換え率1%、すなわち、1cMの遺伝的距離は、4%の不一致率にほぼ等しくなる。つまり、組換え率1%の遺伝的距離を検出するには、戻し交雑子では100頭必要であるが、RI系統では100/4 = 25頭（系統）ですむ。

図4には、RI系統を用いた連鎖解析の実際を示す。M、N座位の染色体上の位置関係と、RIセットにおけるM座位、N座位のSDPを示している。ここでは10系統のRIセットが示されており、M座位とN座位のSDPは、AXB3系統で一致していない。不一致率(R)は1/10 = 0.1である。この値をさきほどの式に当てはめると、M-N間の組換え率が2.9 %と求められる。

RI系統により求められた遺伝的距離の信頼性

遺伝子座同士のSDPが完全一致したとき、不一致率 (R) は0となり、組換え率 (c) も0となる。しかし、R = 0 の意味するところは、調べたRIセットの数が10系統であるのか、100系統であるのかで全く異なってくる。そこで、不一致率 (R) から求められた遺伝的距離の値がとりうる範囲（信頼区間 confidence intervalという）を統計学的に定める必要性が出てくる。

N系統のRIセットで、ある2つ

遺伝子座	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
M	A	B	B	B	A	A	A	B	A	B
N	A	B	A	B	A	A	A	B	A	B
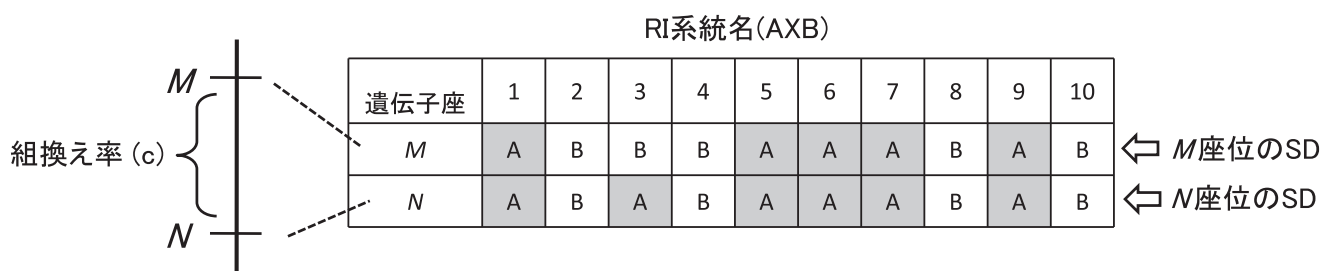
図4　RI系統を用いた遺伝子座間の組換え率の求め方
RI系統のセットをM座位とN座位についてタイピングする。得られた遺伝型のパターンをSDPと呼ぶ。このSDPを比較し、不一致率(R)を求める。文中の「式1」にあてはめM-N間の組換え率を求める。

の遺伝子座のSDPが完全一致した場合、これら遺伝子座間の組換え率をθとしよう。このθが真の組換え値を一致する確率は、以下の式で表される。

$f(\theta)=(1-\theta)^N$

一方、式1を変形すると、遺伝距離 (d) と$f(\theta)$との関係が以下のようになる。

$$\text{遺伝距離 } d=100c=100\left(\frac{f(\theta)}{4-6f(\theta)}\right)$$

$f(\theta)$を縦軸、遺伝距離 (d) を横軸にすると確率密度関数が描ける(図5)。ここでは、RI系統のセットが30系統の場合を示す。このグラフの面積をちょうど半分にする境界がmedian linkage distanceとなる。また、面積の95%を占める境界が95%信頼区間の上限値と下限値となる。系統数を増やすことで信頼区間は狭まる（図6)。

最後に、SDPが100%一致したとき、95%信頼区間の上限がどれぐらいの遺伝的距離(cM)になるかを示す。用いたRIセットの系統数が多いほど、信頼区間の上限は狭くなる（図7)。
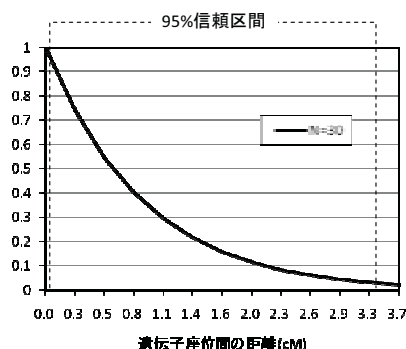
図5 SDPが100%一致した遺伝子座間の距離に対する確率密度関数
30系統からなるRIの場合を示している。グラフの面積をちょうど半分にする境界がmedian linkage distanceとなる。また、面積の95%を占める境界が95%信頼区間の上限値と下限値となる。この95%が意味するところは、“上限値と下限値間の値”と“真の値”が一致する確率が95%になるということである。
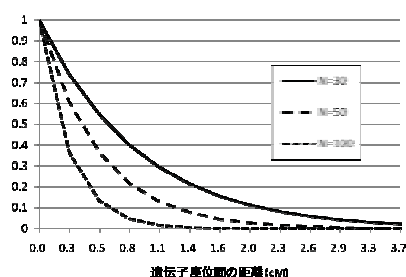
図6 SDPが100%一致した遺伝子座間の距離に対する確率密度関数(RIセットの系統数別)
RIセットの系統数が増加するにしたがい、グラフの面積は小さくなる。
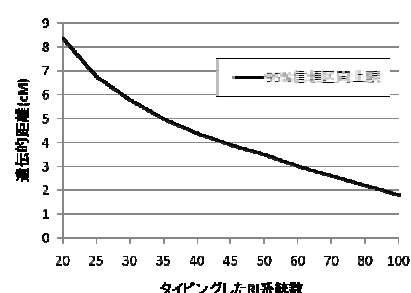
図7 SDPが100%一致した遺伝子座間の距離(cM)の信頼区間の上限(upper limit)
系統数が増えるにしたがい、距離の上限は小さくなり、精度があがる。

おわりに

リコンビナント近交系を用いた遺伝子座間の連鎖解析の基礎的な考え方を紹介した。実際は、MapManagerという便利な解析ソフトが無償でインターネットから入手できる。先にも述べたが、RI系統はQTL解析に適している。特に最近では、遺伝子の発現量を対象とした遺伝解析や相関解析に用いられ、遺伝子ネットワーク解析（システム遺伝学）の実験モデルとして注目されている。また、1000系統のRI系統の確立を目指したCollaborative Crossプロジェクトも進行中である。その重要性は、開発されてから50年を経た今でも色あせていない。

引用文献

Bailey, D. W. (1971) Recombinant-inbred strains: An aid to finding identity, linkage, and function of histocompatibility and other genes. Transplantation 11:325-327.

Crow, J.F. (2007) Haldane, Bailey, Taylor and recombinant-inbred lines. Genetics 176:729-732.

Green, E.L. (1981) Genetics and probability in animal breeding experiments. Oxford University Press

Morse, H.C.III (1978) Origins of inbred mice. Academic Press

Silver L. M. (1995) Mouse Genetics; concept and applications. Oxford University Press

フィリピンにおけるレストンエボラウイルスのブタ等に与える影響について

国立感染症研究所・ウイルス第一部第一室長　森川 茂

1. はじめに

エボラ出血熱は、1976年にアフリカのスーダンとザイール（現コンゴ民主共和国）で初めて大流行したウイルス性出血熱で、エボラの名はザイールのエボラ河に由来する。これまでに発生したエボラ出血熱事例を表1に示す。エボラ出血熱は、「感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律」（感染症法）で最も危険な感染症である1類感染症に指定されていて、その原因ウイルスであるエボラウイルスは特定1種病原体に指定されているため、法的にも日本でのウイルスの取扱いは、バイオセーフティーレベル4となる。エボラウイルスと近縁なマールブルグウイルスは、ウイルス感染サルを介してヒトへ感染することがあるため、平成12年から動物検疫所により輸入サルの検疫が行われている。また、感染症法の第13条において、獣医師はサルがエボラ出血熱、マールブルグ病等に感染または感染した疑いがあると診断したときは、直ちに所有者の氏名その他厚生省令で定める事項を保健所長を経由して都道府県知事に届ける義務が規定されている。これまで、エボラウイルスの感染はヒトや霊長類とアフリカの一部のレイヨウ類（ダイカー）に限られていたが、昨年フィリピンの豚飼育施設でレストンエボラウイルスの感染が確認された。本稿では、豚のレストンエボラウイルス感染に関するこれまでの知見に関して概説する。

2. エボラウイルス

エボラウイルスには、ザイール、スーダン、ブンディブージョ、アイボリーコースト、レストンエボ

表1. エボラ出血熱の流行

流行地（国）	年	死亡者数／患者数	原因エボラウイルス
スーダン	1976	151 / 284	スーダンエボラウイルス
コンゴ民主共和国（旧ザイール）	1976	280 / 318	ザイールエボラウイルス
コンゴ民主共和国	1977	1 / 1	ザイールエボラウイルス
スーダン	1979	22 / 34	スーダンエボラウイルス
米国	1989 / 1990	0 / 4	レストンエボラウイルス
イタリア	1992	0 / 0	レストンエボラウイルス
ガボン	1994	31 / 52	ザイールエボラウイルス
アイボリーコースト	1994	0 / 1	アイボリーコーストエボラウイルス
コンゴ民主共和国	1995	250 / 315	ザイールエボラウイルス
ガボン	1996	21 / 37	ザイールエボラウイルス
ガボン	1996 / 1997	45 / 60	ザイールエボラウイルス
南アフリカ	1996	1 / 2	ザイールエボラウイルス
米国およびフィリピン	1996	0 / 0	レストンエボラウイルス
ウガンダ	2000 / 2001	224 / 425	スーダンエボラウイルス
ガボン	2001 / 2002	53 / 65	ザイールエボラウイルス
コンゴ民主共和国	2001 / 2002	43 / 57	ザイールエボラウイルス
コンゴ民主共和国	2002 / 2003	128 / 143	ザイールエボラウイルス
コンゴ民主共和国	2003	29 / 35	ザイールエボラウイルス
スーダン	2004	7 / 17	スーダンエボラウイルス
コンゴ民主共和国	2007	187 / 264	ザイールエボラウイルス
ウガンダ	2007/ 2008	37 / 149	ブンディブージョエボラウイルス
フィリピン	2008 / 2009	0 / 6	レストンエボラウイルス
コンゴ民主共和国	2008	15 / 32	ザイールエボラウイルス

表2. エボラウイルス種と病原性

エボラウイルス種	Zaire	Sudan	Bundibugyo	Ivory Coast	Reston
自然宿主	Fruit bat ?	不明	不明	不明	不明
マカカ属サルへの病原性	非常に強い	強い	不明	強い	強い
ヒトへの病原性	非常に強い	強い	強い	強い	無症状
ヒトの致死率	60-90%	50-60%	25%	0%	0%
初めての流行地（年）	ザイール（1976）	スーダン（1976）	ウガンダ（2007）	アイボリーコースト（1994）	米国（1989）

注：レストンエボラウイルスによる流行は、カニクイサル施設でのみ報告されている

ラウイルスの5種があるが、ヒトへの病原性はザイールエボラウイルスが最も強く、スーダン、ブンディブージョ、アイボリーコーストエボラウイルスの順に弱くなり、レストンエボラウイルスはヒトには病原性はないと考えられている。カニクイザル等のマカカ属のサルには全てのエボラウイルスが強い病原性を示す（表2）。レストンエボラウイルスはフィリピンに分布するが、他のエボラウイルス種はアフリカに分布するオオコウモリ科のコウモリ数種を自然宿主とすると考えられている。

3. 豚のレストンエボラウイルス感染症の発見

2008年7月に、フィリピンの農務省が米国農務省に依頼して、フィリピンの豚で流行が頻発している急性呼吸器症状及び流産の原因調査を行なった。その結果、豚繁殖・呼吸障害症候群（PRRS）ウイルスと豚サーコウイルス2型に加えて、レストンエボラウイルスが検出あるいは分離された。Pangasinan及びBulacan州の2地域の養豚施設の豚の肺、脾臓、リンパ節からレストンエボラウイルスが検出されている。我々も、フィリピン熱帯医学研究所、東北大学のフィリピン感染症研究拠点センターと共同して調査した結果、過去のカニクイザル間での流行時に分離されたレストンエボラウイルスとは遺伝的に異なるウイルス遺伝子が検出された。Roger W. Barrette博士らの報告（文献1）によると、少なくとも遺伝的に異なる3種類のレストンエボラウイルスが豚に感染していたことが明らかとなった。これらのウイルス遺伝子配列の分子系統学的解析から、豚から検出された3種類のレストンエボラウイルスが1989年から1996年にかけて3回のサルでの流行時に分離されたレストンエボラウイルス間よりも多様性があることが明らかとなっている。このことは、1）サルからレストンエボラウイルスが初めて分離された1989年以前から豚の間で感染が循環していた可能性、2）宿主動物と考えられるコウモリから豚へ感染して施設内で感染が拡大した際に変異が蓄積された可能性、3）宿主動物と考えられるコウモリに感染しているレストンエボラウイルスに遺伝的に異なるウイルスが存在する可能性、等が考えられる。これらのどの可能性が正しいのかを明らかにすることは、今後の重要な課題である。一方、豚はレストンエボラウイルス感染により発症するのかは不明である。多くの豚がPRRSウイルスや豚サーコウイルス2型に感染していたため、急性呼吸器症状及び流産等の臨床所見はこれらの感染によると考えられるためである。レストンエボラウイルスの豚での病原性に関しては、オーストラリアのABSL4施設での感染実験が行われる予定であり、その実験成績を待つ必要がある。

4. 豚施設内でのウイルス感染の程度

豚のレストンエボラウイルス感染が確認された施設の豚の抗体調査から、相当数の豚が感染したことが明らかになっている。Roger W. Barrette博士らの報告（文献1）では、ウイルス感染豚の肺にウイルス抗原が検出されているため、飛沫あるいは空気感染により豚施設内で感染が拡大したと考えられる。しかし、上述したように多くの豚がPRRSウイルスや豚サーコウイルス2型に感染していたため、これらによる免疫抑制や呼吸器症状がレストンエボラウイルスの感染拡大に寄与した可能性がある。一方、これに関連して関係者の抗体調査が行なわれた結果、6名から抗体が検出された（文献1）。豚のレストンエボラウイルス感染に関しては全く想定されていなかったため、我々の検査系は豚検体用に検査法を改良する必要があったが、遺伝子組換えウイルス蛋白を用いた抗体検査法が適用でき、米国疾病予防管理センターが作製したレストンエボラウイルスを培養して作製した抗体検査法の結果と一致した。このことから、豚施設内でのウイルス感染の拡大が確認できた。

5. レストンエボラウイルス感染が確認された施設以外での豚の感染状況

現時点では、レストンエボラウイルス感染が確認された施設以外の豚の調査が充分行われていないため、豚での感染の実態は不明である。豚から検出・分離されたレストンエボラウイルスの遺伝子配列解析から、上述したように、1989年以前からレストンエボラウイルス感染が豚で循環していた可能性が否定できないが、この正否に関しても豚の疫学的調査が必要で、今後の調査結果を待つ必要がある。

6. レストンエボラウイルスの宿主は？

ザイールエボラウイルスとエボラウイルスに近縁なマールブルグウイルスは、アフリカのオオコウモリが自然宿主動物であることが強く示唆されている（文献2-6）。ザイールエボラウイルスは、ウイルス遺伝子及び抗体が、ウマヅラコウモリ、フランケオナシケンショウコウモリ、クビワフルーツコウモリから検出されている。アフリカでの霊長類やレイヨウ類（ダイカー）への感染は、コウモリの食い残しの果実等を食することによる間接的な感染ではないかと考えられている。マールブルグウイルスは、エジプトルーセットオオコウモリ等から検出されていて、最近ウイルスも分離された。オオコウモリは多種あり、その分布もアフリカ、アジア、オセアニアと広く、フィリピンにも多く生息していることから、レストンエボラウイルスの自然宿主もフィリピンに生息するオオコウモリである可能性がある。エボラウイルス5種のうち4種がアフリカに分布し、レストンエボラウイルスのみアジアに分布するのは、おそらく自然宿主の分布域の違いによると思われる。今後、新たなエボラウイルス種が発見される可能性も否定できない。

7. 日本へのウイルス侵入はあり得るのか？

エボラウイルスとマールブルグウイルスは感染したサルを介して輸入される可能性があるため、日本が承認した国、施設以外からのサルの輸入禁止と承認施設からの輸入サルの輸出国及び日本での検疫が行われている。豚に関してエボラウイルスの検疫等はないが、日本はフィリピンから豚や豚肉等を輸入していないため、今回の事例に関連したレストンエボラウイルスの日本への侵入はないと考えられる。

8. 最後に

今回の事例から、エボラウイルスは霊長類以外にも自然感染して感染が拡大しえることが明らかになった。ウイルスが自然宿主から、いわゆる種の壁を越えて他種の動物へ感染していくためには、通常ウイルス遺伝子の変異が必要である。何らかの変異が豚へのレストンエボラウイルス感染に際して導入されたのかは現時点で不明である。現時点では、フィリピンなどでの豚のレストンエボラウイルス感染状況が充分解明されていないため、その影響に関して考察するために、今後の疫学調査の結果を待つ必要がある。

参考文献

1. Barrette RW, et al. Discovery of swine as a host for the Reston ebolavirus. Science 325(5937):204-6, 2009

2. Pourrut X, et al. Spatial and temporal patterns of Zaire ebolavirus antibody prevalence in the possible reservoir bat species. J Infect Dis. 196 Suppl 2:S176-83, 2007.

3. Biek R, et al. Recent common ancestry of Ebola Zaire virus found in a bat reservoir. PLoS Pathog. 2(10):e90, 2006

4. Leroy EM, et al. Fruit bats as reservoirs of Ebola virus. Nature 438 (7068): 575-6, 2005.

5. Towner JS, et al. Isolation of genetically diverse Marburg viruses from Egyptian fruit bats. PLoS Pathog. e1000536, 2009

6. Swanepoel R, et al. Studies of reservoir hosts for Marburg virus. Emerg Infect Dis. 13(12):1847-51, 2007.

スロヴェニア・北イタリア

海外散歩

クロアチア・スロヴェニア・北イタリア漫遊記

株式会社日本医科学動物資材研究所
代表取締役　日柳 政彦

第三話

（2008年6月13日（金）第六日目）

旅の大きな目標の一つクロアチアの旅が今日で終わる。　オパティアの朝もまたよい天気。今日は暑くなるみたい。出発間もなくクロアチアに別れをつげ、スロベニアに入った。約15分位の入国手続き後、一路最初の訪問地ボストイナ鍾乳洞へ向かった。トロッコ電車に乗り込み深い洞窟の中を、日本では考えられないくらい速いスピードで、洞の奥地に進み数多い幻想的な鍾乳石の広場にきた。徒歩で洞内を廻った後再び電車に乗り込み外へ出た時には、曇りだった空から雨がポツリポツリと降り始めていた。

スロベニアの首都リュブリアナは雨中の訪問となった。昼食は久々の中華料理。街の中心街の一角にある中国人の店（レストランとは言い難い）。このツアーにしてはこんな大衆的な店は珍しいかもしれないが、幹事のリクエストに添乗員が応えたらしい。店の構えの割に結構いける味。ヨーロッパでしかも滅多に来られないスロベニアでの中華料理に満足。

ケーブルカーで市内端の高台にあるリュブリアナ城へ登ったが、しきりに降る雨で市内はガスって見えず。早々に引き返し首都を抜けることにした。旧市街は駐車場がなく20分も雨の中街角でバスを待った。待つ間、目の前の本屋の店頭に日本のガイドブックが置かれていた。スロベニアの人達も日本に関心を持ってくれていると思うと何だか嬉しくなった。

車中、スロベニアの街並を観ていて、クロアチアのそれと趣が異なって見えた。歴史的にも建物はよく似てはいるが、どちらかというとスロベニアの方が街並みは落ち着いて見えた。雨の所為かも知れないが、郊外に出て雨がやんでいてもそう感じた。女房も同く感じ取ったようである。

雨のため2時間遅れでスロベニア最初の宿泊地、オーストリアとの国境に横たわるユリアンアルプスの麓ブレッド湖に到着。

当初この地一番のホテル、グランドホテルを予約していたが、出発前に急遽ホテルを変更させられることになったという。理由は米国のブッシュ大統領が同日プライベートで（？）ここに宿泊するとのこと。観光ツアーの大半はホテルを変更させられたようである。しかしながら、湖畔のグランドホテルより高台にある、我々のホテルゴルフの方が湖を一望でき眺めがよいと思った。けっして負け惜しみではない。翌早朝の偵察の結果である。ブッシュには残念ながら会えなかった。

写真1 ユリアアルプス最高峰・白銀に輝るトグラウ山（スロヴェニア ・ ブレッド湖より望遠で眺望）

夕暮れになりようやく厚い雲の西の彼方に、ユリアンアルプスの最高峰「トリグラウ山（2864m）」と、その隣の「カラワンケ山（2238m）」が近くの山間から夕日に映えた見事な姿を現した。雪を頂くトリグラウのその姿はまるでマッターホルンにそっくり（マッターホルンを直に観てきたことのように言っているが、冒頭申したように行ったことがない。トリグラウはスロベニア国民にとって日本の富士山と同じく、一生に一度は登りたい山であり、国歌・紋章にデザインされている自慢の山だそうだ。

明日はよい天気になるようだ。朝の眺めに期待する。

（2008年6月14日（土）第七日目）

天候が気になり朝早く起きた。誠に残念ながら雨である。トリグラウもカラワンケも全く見えない。朝、メールを見る傍らインターネットで日本のニュースを見ていたら、8時43分岩手県奥州市と宮城県栗原市に渡り震度6強の地震が発生した模様。震源地は岩手県内陸部でマグニチュード7.2。死者6人と多くの怪我人が

出ているとのこと。早速車中でこのことを皆に知らせた。我々の仲間に被災者がいなければいいのだが。
ブレッド湖やボヒニ湖上からトリグラウ山の眺望を楽しみにしていたが、天は我に味方をしなかった。ブレッド湖上に浮かぶ小さなブレッド島にある聖マリア教会へは手こぎボートで渡り、湖畔からの階段100段を上がらなくてはならない。ボートで折角来たが我が家族は断念。歳甲斐もなく私はすこぶる元気。臆することなく一度に駆け上がった。
教会には願いの鐘がある。つき手の旅行者は鐘をならそうと必死で、肝心の願い事を全く忘れているようだ。というのは、教会の中では鳴っている音色が全く伝わらない。外はうるさいほど鳴っているらしい。外に出て初めてそのことに気がついた。近所迷惑な不思議な鐘である。(罰当たりな発言にご容赦！)
ブレッドの街でひと際そびえる山の頂にブレッド城がある。ここに行く途中バスはしばらく小休止した。約20分ほど待ってくれと添乗員は言う。何事が起こったか車中一瞬シーンとなった。そのあと説明を聞いて一同大爆笑。　昨日の昼食時、仲間のご婦人（86歳のご高齢にかかわらず一人でしゃきしゃきとみんなに遅れず行動している。母に大きな声で言いたい !! ）が食べている最中、入れ歯がはずれ床に落っことして壊れたらしい。その後の食事が食べるに食べられず、我慢できずそっと添乗員の小牧君に相談したという。彼は必死になってホテル近くの歯医者さんを探し、応急処置をしてくれる医院を見つけ壊れた歯を昨日のうちに持ち込んだそうである。ただ今彼女は歯医者さんで入れ歯を合わせてもらっている頃と相羽さんの説明。
そのうち街の角から、若い長身の男性と小さい体の彼女が腕を組みつつこちらに近づいてきた。そのしぐさが何とも可愛くて微笑ましい。車中みんなして拍手で出迎えた。乗車してからもまた大爆笑。しかし笑い話でよかった。添乗員の働きぶりには本当に感謝感謝。旅先では本当にいろいろあるもんだ。
昼食はユーゴスラビア時代のチトー大統領の旧別荘でとる。現在はホテルとして一般に利用されている格式の高いホテルである。午後ボヒニ湖へ行ったが、山中雨が降りしきり下界はうっすらしか見えず。
夕食はビュフェスタイル。これまたどこで調理したのか、冷やし素麺が食卓に並んだ。ちゃんとスイカまでついている。添乗員の心憎い演出である。このレストランのカルロス支配人がすごく協力的で、厨房を貸してくれ、また調理をも手伝ってくれたとのこと。本当に旅の情けはありがたい。
朝出したクリーニング衣類が部屋に返っていない。他の人はみんな受け取ったとのこと。フロントでは明朝は間違いないという。本当かな。

写真2 ブレッド湖から見るユリアンアルプス（スロヴェニア）

（2008年6月15日（日）第八日目）
早起きしてベランダから外を見る。トリグラウ山が旭日に映え素晴らしい光景。昨日の雨が嘘のように晴れ渡って気持ちがいい。2日ぶりの晴天。本当にさわやかな朝を迎えた。時間とともに、朝日は山裾に伸びた。朝食後湖面全体が朝日を浴びてキラキラ光ってまばゆい。聖マリア教会やブレッド城も晴れやかに輝いている。部屋に戻るとクリーニングに出した衣類が届いていた。本当にやきもきしたがほっとした。
今日はいよい最後の訪問国イタリアに向かう。朝から晴れわたり体も心？も快調。バスはスロベニアからユリアンアルプスの全長約8kmカラワントンネルを抜けオーストリアに入る。40分ぐらいオーストリア国境の山々を廻り北イタリア随一の景勝地ドロミテ山塊に。道中は好天に恵まれ車窓からの見晴らしは抜群。
ドロミテに近づくにつれ2000から3000m級の花崗岩の岩山が切り立っている。ユリアンアルプスの一角ドロミテ山塊の雄姿を目一杯に焼き付けた。ミズリーナ湖の山裾に広がる牧場は色とりどりの高山植物が咲き乱れ、本当に夢にまで見たチロルの牧歌的風景にしばし見とれ我を忘れた。今にも「アルプスの少女・ハイジー」が出てきそうな風景だ。360°取り巻く山塊も日本ではまず見られない素晴らしいに尽きる。来てよかった。ここが目的地の2つ目であった。
贅沢言えば、標高約3000mのトレ・チーメ・ディ・ラヴァレード山の眺望がかなわなかった。3つの頂上が雲に包まれ山裾だけしか眺望できなかった。
夕飯時、3つのテーブルにそれぞれ1人、本日誕生日を迎えた方がいる。偶然とはいえ全く不思議なめぐりあいだ。誕生者の隣にいる男性（私もその1人）が、あらかじめ用意されたケーキのアテンダーを指名された。ケーキがあまりに多いので、レストランから客にもおすそ分けされ大喜びされる。なぜかテーブルにおにぎり赤飯が1人2個づつ置かれていた。いつの間に用意したのか。種

写真3 ミズリーナ湖手前の高原
（後はドロミテ山塊）
（北イタリア）

を明かせば、女房が内緒で午後のつかの間に添乗員と一緒に作ったとのこと。添乗員が日本から持ってきた保存用赤飯をお湯で暖め戻したらしい。女房はただ握っただけ。添乗員とシェフの計らいに頭が下がる。ドロミテ山塊の中心地コルティナダンベッツォのホテルに戻るとまたまた、おにぎり作りに6人の女性達が集まった。ここまでやるの？

（2008年6月16日（月）第九日目）

早朝訃報が届いた。仲間のお一人の父上が急逝したとのこと。2日前に危篤に陥られ連絡は東京の旅行社からすでに当人に連絡が入っていた模様。車中全員で黙祷。

コルティナダンベッツォは誠に残念ながら朝から小雨。一面霧の中ボイドイ峠も霧に包まれ、その上小雨がばらつくあいにくの天候になってしまった。もちろん楽しみにしていたサッソ・ボルドイ展望台までのケーブルカーも運休。ここが今回のハイライトであったらしい。最高峰マルモーダ山（3433m）も全く姿が見えず。残念。でも、まだ残る雪渓の雪をこの手にしユリアンアルプスを体で確かめた。

その後の予定を変更して、日本人ツアーリストが必ず訪れるという透明度抜群のカレッツァ湖にコスタルンガ峠経由で向かう。湖に着いた頃一時雨が止んだ。湖畔まで降り、本来ならこの湖を前にし背景の山並みの大パノラマは理想的で素晴らしいと言うも、残念ながら澄んだ水の青さと湖上に写る緑のカラ松の美しさだけを楽しんだ。

コスタルンガ峠でおにぎり2個を頂き満足の中、一瞬の晴れ間から勇壮なドロミテ山塊の一つ、カティナッチョ連峰を見ることができた。山麓もきれいな高山植物が咲きほこっていた。ラッキーな一言。

夜中に帰国の準備を始めたところ、あるはずのバッグにパソコンがない。確か一昨日夜メールを見るため使っていたはず。昨夜は日曜日なので開いていない。今一度狭い部屋のあちこちを探したが見あたらない。無駄と知りながら女房も手伝ってくれたがダメ。バスの中でパソコンにデジカメのファイルを移していたのを思い出したが、急なことで頭が混乱している所為か、いつの日か思い出せない。しかし、いつも、バスを降りるとき一番後ろの座席にいる自分が、車中忘れ物をくまなく点検しながら下車することになっている。間違いなく昨日も今日もそうした。もし、一昨日まで泊まっていたスロベニアのブッレッド湖のゴルフホテルに忘れたならどうしよう。でも、いつも出発前に執こいほど点検するのに。全く自信がなくなってしまった。こうなったら、明日団体から1人離脱し、タクシーをチャーターしてブレッド湖まで戻り、明日夕方直接ヴェニスの宿泊ホテルに合流するという、今から見ればとんでもない案を真剣に考え始めた。パソコンには機中や旅行中に作成したファイルや開いたメールが詰まっている。なくしては絶対ならない大切なものの一つである。

しずれにしても、相羽会長には今夜のうちに知らせておかなければならない。この話を聞き彼の顔も変わった。しばらく考えたのち、一昨日車中で芸術写真を見せてくれたと言い、しきりに車中ではないかと進言する。でも彼も確かに下車時点検したはずであり、彼の自信はゆらぐ。

眠られない夜は長かった。

（2008年6月17日（火）第十日目）

パソコンが気になって四時半に起きてしまった。今一度部屋を探しているとき、女房も起きてきた。彼女も気になって眠られなかったそうで、全く面目ない。まだ朝早いのでバスの駐車場まで行けない。 6時になってそろそろバスドライバーを起こしてもらおうと階下に降りたとき、外からホテルに入ってきた相羽さんと出くわした。彼の手には間違いなくパソコンがあった。見つかったのだ。やはり車中にあったらしい。坐席の一番前の床の隅にあったという。後ろから前に滑って行ってたらしい。彼もあきらめはじめてなお、念のために床下を後ろから調べ始めが見当たらず、あきらめだした頃最前坐席の床角にあったという。床と同系色でうっかり見落とすところであったと言う。本当に感謝感激、雨あられ。妻も思わず相羽さんにハグハグ。

このお粗末なお話が、一件落着し、落ちがついたところでなが〜い、なが〜いこの漫遊記をおしまいにする。今日以降の予定は多くの方々の誰もが行っておられるヴェニスとミラノである。まだまだおもしろい話があるが読者のことを考え割愛する。
ミラノから成田まで直行。6月18日夜に一行全員無事帰国。ハプニング続出の、でも、人との触れ会いをしっかり学んだ素晴らしい旅を経験した。仕事がらみでない旅も大変であることを実感した。

最後に、第一話の冒頭で散々コケ落とした旅行社に最大の拍手を送る。私を知っている方なら、私が人をこんな風にコケ落とすはずはなかろうと考えられたはず。そうです。褒め称えるための東野圭吾的演出だったのです？？？。
おしまい。

抄訳38-1

Information

MFI法によるマウス・ラット感染症の多項目抗体検査

Multiplex Fluorescent Immunoassay（MFI）は、ひとつの反応wellで多数のウイルスあるいは細菌に対する抗体を同時に検出でき、しかも感度や特異性の高い血清検査法である。また、MFIは、既存の検査法に比べていくつかの長所をもち、実験動物の検査機関で採用されつつあるハイスループットの検査法である。本報告は、MFIと実験動物の血清診断への応用に関する総説である。

実験動物に感染する病原体に対する抗体の検出法として血清検査はきわめて有用である。剖検時の検体はもちろん動物を生かしたまま採取した検体でも検査が可能であり、感染症の診断に広範囲に利用されている。MFI法は、最近、普及しつつある新しい血清検査法であり、ウイルス性あるいは細菌性の病原体のさまざまなタンパク抗原を結合させたマイクロビーズに2種類のレーザー光を当て抗原に反応する抗体の存在を検出する方法である。また、血清抗体の検査だけでなく、サイトカイン、ペプチド、オリゴヌクレオチドの検出にも応用でき、さまざまな研究領域で応用が進んでいる。

実験動物に関するいくつかの検査機関[訳注1]ではMFIをELISAの代替法として採用し、検査の自動化を進めている。MFIの感度や特異性は、ELISAと同等もしくはそれより優れている。MFIもELISAもハイスループット分析法といえるが、MFIは多項目の病原体に対してごく微量の検体で検査可能という点でELISAよりも有利である。ELISAではひとつの反応well（通常、96 wellのマイクロプレートを使用）に1種類の抗原を被覆させるため、多数の抗原に対する抗体を検出するには抗原ごとに異なるwellが必要となるが、MFIでは、多くの抗原を色で区別できるマイクロビーズに別々に結合させ、それらを混合してひとつのwell内で反応させることができる。このため、わずかな血清で多種類の病原体に対する抗体の同時検査が可能であり、マウスのような小型の実験動物を生かしたまま採取した微量の血清でも多項目の抗体検査が可能となる。

原理と方法

MFIでは抗原と共有結合する5.6 μmのマイクロビーズを使用する。マイクロビーズはそれぞれ特定の色に対応する蛍光色素を含んでおり、ある抗原を1本のチューブの中でひとつの色のマイクロビーズと共有結合させ、別の抗原は2番目のチューブの中で別な色のマイクロビーズと共有結合させる（Fig. 1）。現在、100種類の色に対応したマイクロビーズが入手可能であり、これは100種類の抗原に対する抗体検査を同時にできることを意味している。

1種類の抗原に対して2,000～2,500個のマイクロビーズを使用し、それぞれの抗原とマイクロビーズを結合させた後、ひとつの反応well訳注2）内で混合し、血清検体を加え、マイクロビーズとともにインキュベートする（Fig.2）。血清はPBSで希釈し、通常は1～5 μℓを反応wellに加える。検体中に特異抗体が存在すれば抗原と結合し、結合しなかった非特異的抗体は洗浄により除去される。洗浄操作の後、蛍光性のphycoerythrin（フィコエリスリン）で標識した抗IgG二次抗体を加える。これらの抗体は、抗原－マイクロビーズ結合物と反応した一次抗体にのみ結合する（Fig.3）。未結合の二次抗体は洗浄により除去する。

反応well中のマイクロビーズを専用のフローサイトメーター（Luminex, Austin, TX）で解析する。マイクロビーズは一列になって検出チャンバーを通過し、2種のレーザー光で励起される（Fig. 4）。最初のレーザーで特定のカラーコードを示すマイクロビーズと抗原の結合物を同定し、2番目のレーザーで検体中に抗原特異的に反応する抗体が存在する場合にだけ残存するフィコエリスリンの蛍光を検出する。一般的には、それぞれのカラーについて100個のマイクロビーズを2回分析し、蛍光強度の中間値を記録する。

考察

血清学的検査は、実験動物の病原体に対する抗体の検出にきわめて有効な手段である。MFIは従来のELISA法に比べていくつかの利点があり、ELISAに替わる方法として採用されつつある。第一に、MFIは1種類の抗原に対する抗体検査でも100種類の抗原に対する検査でも、同時にひとつの反応wellの中で実施できる。第二に、抗原の種類に関係なく、未希釈血清ならわずか0.2 μℓを用いるだけで検査が可能なことである。第三に、MFIの感度はELISAの感度と同程度かそれ以上である。第四に、ひとつの病原体について複数の抗原を同時に検査でき、ある検体中に複数の抗原に対するそれぞれの抗体を確認できれば、その病原体による感染を明確に示すことができる。例えば、パルボウイルスの検査にキャプシドタンパク（VP2）と非構造タンパク（NS1）を使うことができる。

MFIにはELISAと比較して大きな欠点はみられない。この検査法の限界は、他の血清学的検査法の特徴でもあり、1）非特異的な抗体と反応するfalse positive（偽陽性）が出る場合があること、2）抗体を産生しない免疫不全動物は検査できないこと、3）病原体に対する抗体の検出は過去の感染を示し、必ずしも現在の感染を示すわけではないこと、4）MFIには特殊な装置が必要であること、が挙げられる。

病原体に対する抗体を検出する他の検査法として、間接蛍光抗体法（IFA）、ウエスタン・ブロット法あるいは血球凝集抑制（HI）試験がある。これらは操作が複雑で時間を要するため多数検

体を効率よく処理するハイスループット検査には不向きで、確認検査として利用される。さらにIFAやHIは主観的な判定に頼るため、感度に影響を生じやすい。MFIは感度や特異性の点でこれらの検査法に替わるものであり、実験動物の多くの病原体に対する血清抗体のハイスループット検査法として普及するであろう。（抄訳：八神健一）

訳注１）米国では大規模ブリーダーや検査機関で採用しており、わが国でも導入の準備が進行中である。
訳注２）洗浄操作を容易にするため、96 well フィルタープレート（MILLIPORE, マルチスクリーンHTS）の使用が便利である。
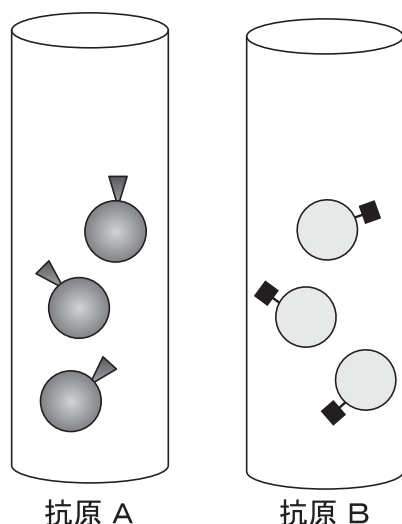
Fig. 1 異なる病原体のタンパク抗原が、それぞれのチューブの中で特定のカラーコードのマイクロビーズと共有結合する。抗原Aはマイクロビーズ（●）と結合し、抗原Bはマイクロビーズ（◎）と結合する。
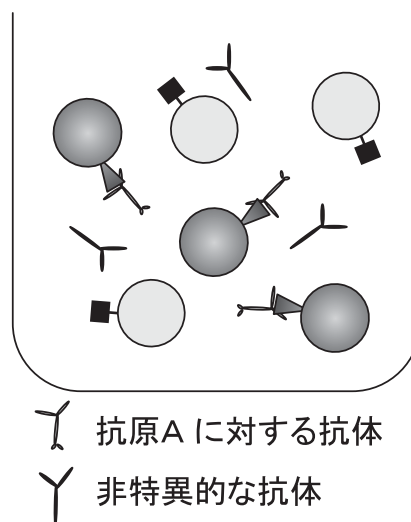
Fig. 2 多数の病原体に対する抗体を同時に検査するため、それぞれの抗原と結合したマイクロビーズをひとつの反応wellの中でよく混合し、血清検体を加える。抗原Aとそれに対する特異的抗体は結合するが、非特異的な抗体は結合せず、洗浄により除去される。この図では、抗原Bに対する特異的抗体は存在しない。
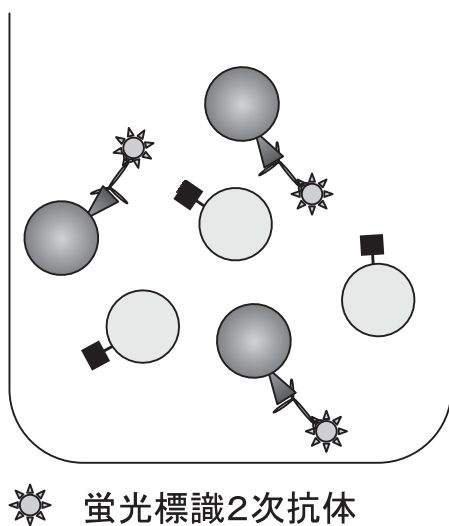
Fig. 3 ２次抗体（phycoerythrin（PE）で標識された抗IgG抗体）を反応wellに加える。２次抗体はマイクロビーズ上の抗原と結合した１次抗体と反応する。結合しなかった２次抗体は洗浄により除去される。
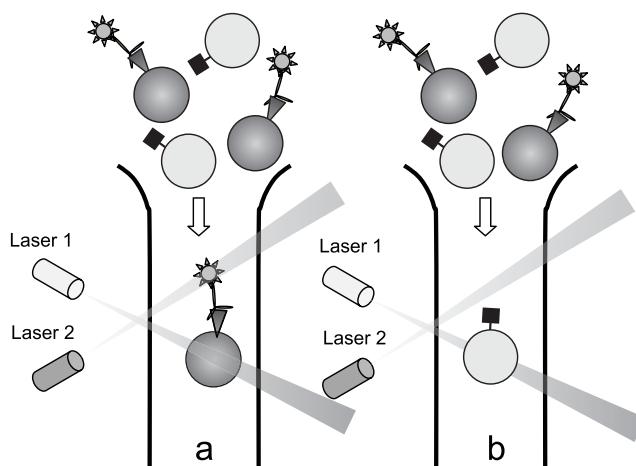
Fig. 4 マイクロビーズは、2種類のレーザー光を発生する専用のフローサイトメーターで解析する。(a) Aに対する抗体が陽性：レーザー1は抗原Aと結合したマイクロビーズ（●）を検出し、レーザー2はPEからの蛍光を検出しその強度を定量的に測定する。(b) Bに対する抗体が陰性：レーザー1は抗原Bと結合したマイクロビーズ（◎）を検出し、レーザー2はPEから発する蛍光を検出できない。

Hsu CC, Franklin C, and Riley L: Lab Animal. 36(8), 36-38 (2007).

キーワード：Multiplex Fluorescent Immunoassay（MFI）、感染症、血清検査法、多項目抗体検査

○○○ わが社のプロフィール ○○○

■ 中部科学資材株式会社

代表者：代表取締役　團迫勉
本社所在地：名古屋市千種区春岡1-22-9
URL：http://www.cksdan.com

「私たちが願っていることはすべての生き物たちの幸せな未来」
「良質の実験動物を確実迅速に供給することをモットーとして」

弊社は1967年に創業して以来、42年間にわたり実験動物を主とした研究資材の提供を通して、中部地区のバイオサイエンス研究の発展に貢献して参りました。

1967年5月農林省（現農林水産省）長野種畜牧場血統書付日本白色種雌雄50番の種ウサギの分譲を得、自社商品として大学・製薬会社等に実験・研究に適応するウサギを供給するため飼育環境の最適地、愛知県知多郡美浜にウサギ生育場を築造しました。

1971年に愛知県畜産課技師の指導のもと三河・渥美にウサギ生育場を建設、1980年には研究のニーズに沿った資材の提供を常に心がけ、月産5,000匹の供給体制に整備しました。

近年においてはヒトゲノム解析終了を発端としたバイオサイエンス業界の飛躍的な進歩にも柔軟に対応し、研究者側の立場から考える「ラボの問題解決を提案する会社」を社員一同目指しております。

マウス、ラットやウサギはもとより、実験動物としてウシガエルやメダカ、ウズラなど研究者の要望に柔軟に応えております。また研究材料の多様化に伴いトランスジェニック動物やノックアウトマウスの作出を始めとした技術的なサービスの提供、飼育管理業務や技術スタッフによる研究のサポート、クリーンアップ業務および動物輸送管理、最適な飼育機器や飼育室のレイアウトのご提案など42年間培ってきたノウハウを余すことなく活用し、研究者へのより一層のサービスを心がけております。

また動物愛護法、カルタヘナ法、外来生物法など各種法令を遵守し、動物福祉の精神にのっとり、中部地区唯一の実験動物におけるエキスパートとして専念して参りますので、何卒よろしくお願いいたします。

■ 株式会社　リバース

代表者：代表取締役　都外川道徳
本社：東京都板橋区舟渡4－16―9
URL：http://www.re-birth.co.jp/index.html

弊社は1976年、実験動物死体と、それに係る糞尿等汚物の焼却処理を行う仕事を個人にて開始し、1979年に㈱リーバス・アニマルサービスとし法人化しました。

この仕事を始めたきっかけは、兄がペット霊園を始めた折、製薬会社から定期的に出る、ウサギの死体処理について問い合わせがあり、ペット霊園の火葬炉で火葬処理する事から始まりました。創業当初は実験動物が何処でどのように使われているかまったく判らない状態でしたので、実験動物を供給している組合名簿を頼りに、供給業者の方をお尋ねし「実験動物死体の処理を手伝わせて下さい」と、ぶしつけにお願いに上がりました。多くの業者の方から「お客様に言われたら紹介する」、「うちの動物死体も頼むよ」など暖かい言葉を頂き、皆様に大変お世話になりました。

平成7年に社名も㈱リバースと改め、会社も当初の世田谷から練馬、そして現在の板橋区舟渡へと移り、皆様のおかげで少しずつですが大きくなってまいりました。

現在は、主に東京23区の一般廃棄物と、ほぼ首都圏全域での感染性廃棄物の収集運搬を行なっております。

また研究機関等からの実験動物死体等の収集運搬を主に行なっておりますので、埼玉県東松山市に弊社動物慰霊碑を設け、毎年全社員で動物慰霊祭を行なっております。

近年では、感染性廃棄物の容器にICタグを貼り、廃棄物の追跡管理（トレーサビリティ）が出来るシステムも実稼動出来るようになりました。

皆様に高い信頼を得られる収集運搬業者を目指しておりますので、よろしくお願い致します。

■ 株式会社星野試験動物飼育所

代表者：代表取締役　星野雅行
所在地：茨城県坂東市幸田1405
http://www.hoshino-lab-animals.co.jp

弊社は、私が生まれる前より埼玉の実験動物生産者の動物を購入し都内の大学に動物を自転車で輸送販売しておりました。1953年星野試験動物飼育所を設立し、同年千葉県流山市に最初の動物生産施設作り、1966年埼玉県八潮市にクリーン廊下とダーティー廊下に分れた4動物室で本格的に実験動物生産を開始しました。

多くの研究者の要望に応え、良質の実験動物を大塚癌研、癌センター一などに生産販売して、その際先生より色々な海外の情報をいただき、又海外から先生が購入した実験動物を先生の希望で委託生産いたしました。

1966年佐々木研よりDonryuラット、1972癌研よりBUFラット、ACIラットなどの癌移植ラットを委託生産し、1975年自治医科大学の曽我部博文先生よりSHRの種分与を受け1977年SHR-SPの委託生産を開始、SHR-SPの生産を開始しましたが、SHR-SPは大変病気に弱く感染症にかかって死亡することが多いため日本エスエルシ一(株)の協力を受けて1981年に茨城県坂東市に80坪のSPF生産施設A舎を作り、コンベンショナルで飼育していたSHR、WKY、SHR/SP、Donryu、ACI、HR-1ヘアレスマウスなどをSPF化し生産販売を開始いたしました。

1990年60坪のSPF生産施設B舎を作り各企業、大学からのSPF委託飼育施設として委託生産販売を開始、2008年70坪のSPF生産施設C舎を作り現在A、B、C舎3棟で多くのお客様に支えられSPF動物を生産販売し、2008年メラニン保有のヘアレスマウスを2系統HRMとHRM2を当社独自で開発生産し、皮膚癌、シミの実験に貢献しております。

実験動物生産業者として難しい環境の中、お客様の要望に応え、自然を生かし動物愛護にも気を配った高品質の実験動物を生産販売し社会に貢献していきたいと考えております。

■ 北山ラベス(株)

代表者：代表取締役　平澤和男

我社は、1965年に(株)北山商店を京都に設立、翌年には現在の社名である北山ラベス㈱へと社名を変更し、1992年に本社を京都から現在の長野県伊那市に
移転しました。設立当初は京阪神地区の大学や製薬会社へ実験用のマウスやラットを主に販売していましたが、お客様よりのご要望に応えるべく現在では実験用ウサギやイヌの生産販売と各種の抗体生産や細胞培養等のバイオ関連受託サービスなどを行い事業を拡大し今日に至っております。

弊社の主力生産動物であります実験用ウサギは1972年に日本白色種を帝王切開人工哺育により日本で初めてSPF化し、その後NZW種、ダッチ種、遺伝性高脂血症のモデル動物であるWHHLウサギを相次いでSPF化いたしました。日本白色種とNZW種は1986年に開設した箕輪生産場で、より再現性の高い実験動物用ウサギとして生産し、自社での品質管理や微生物検査にも注力し自社製品の信頼性向上に努めています。又、1991年に開設した伊那生産場では、よりリーズナブルなヘルシーウサギの生産と特殊ウサギのダッチ種、WHHL種の生産を行っております。

実験用イヌに付きましては岐阜県飛騨市で吉城ファームを運営し実験用交雑犬の生産を行い、又、山口県岩国市では本郷ファームを運営し実験用ビーグル犬の生産も行なっています。交雑犬は主に心臓、血管等の循環器の薬理試験に又、ビーグル犬は主に医薬品の安全性試験に多く使用されています。

バイオ関連受託サービスの事業は2003年に開設した伊那バイオセンターにて、各種抗体の受託生産、各種細胞を用いた遺伝子発現、各種細胞培養、発熱性物質試験、胆癌動物試験等の受託サービス事業を幅広く行っています。

弊社は今後もお客様の声に耳を傾け謙虚に動物愛護精神を重んじ社会に信頼され、貢献できる企業を目指し邁進したいと思っています。今後とも何卒
宜しくお願い申し上げます。

■ エルエスジー株式会社

代表者：高田　明
所在地：東京都新宿区新小川町6-36S&Sビル
http://www.lsg.co.jp

弊社は、前身の加商㈱（現・豊田通商㈱）よりライフサイエンス部門の商権移譲を受け、2002年1月に発足しました。前身の加商時代、1960年代から実験用サル類ならびにビーグル犬など実験用動物の輸入を通じて研究者の多様な要請に応えてきました。その間、B型肝炎研究のための国家プロジェクトにおいては、アフリカからチンパンジーを輸入しB型肝炎ワクチン開発の実現の一端を担い、国民衛生の向上に貢献ができたことは私どもの誇りとするところです。弊社は良質の実験用繁殖カニクイザル・ビーグル犬などの供給を通じて研究者の皆様より大きな信頼を頂いております。一方、動物実験用各種資器材の輸入、安全性試験・バイオ医薬品関連試験の仲介業務など業容を拡大してきました。近年は米国子会社・LS Global Inc.（シカゴ）を拠点に、IT化の進展に伴う各種データマネージメントにおける高品質・高精度・高信頼性を有する器材やデータ管理ソフトなどの分野への取り組みにも注力し、そのサービス内容の拡充に努めております。また、実験用カニクイザルの繁殖を民間として世界で最初に手掛けたSICONBREC社（フィリピン）を子会社として運営し、高品質の動物を日米欧の研究者の皆様にお届けしています。

弊社は社員全員がゴールに向けて前進してまいりますので、今後とも皆様のご支援ご指導を賜りますよう宜しくお願い申し上げます。

ミッション：人類の健康と福祉に貢献する
ゴール：CRO,サプライヤー及び研究者から最高の信頼と評価を得るパートナーとなる
ビジョン：私たちはネットワークとして機能することを目指します
それは参加する人たちがその価値を高めるネットワークです
私たちは変化に挑戦することでこのネットワークの機能を高めていきます

■ 日生研株式会社

代表者：代表取締役社長　矢澤　肇
所在地：〒198-0024 東京都青梅市新町9丁目2221番地の1

「日生研株式会社」は、昭和34年に社団法人 日本生物科学研究所の収益事業の分離に伴い、その動物用生物学的製剤（動物用ワクチン、診断液等）の製造販売事業を継承して東京都立川市に設立されました。その後、昭和41年に実験動物及び飼料生産部門として山梨県小淵沢町に小淵沢支社を開設し、昭和48年から実験動物及び飼料の販売を開始しました。さらに、同年より医薬品、農薬等の安全性試験、毒性試験の受託を開始しています。

本社は現在、東京都青梅市を所在地としていますが、昭和44年に鶏病ワクチン製造部門を移転拡充するため青梅支社を設立した後、昭和53年に他の製剤製造部門も立川市から青梅市に移転統合して現在に至っています。本社では、主として鶏、豚、馬、牛、犬、猫用ワクチンの製造・販売、及び医薬品や農薬等の安全性試験、毒性試験等の受託を行っています。

小淵沢支社で生産・販売している実験動物は、感染・免疫実験、薬物等安全性試験、薬理・生理学的試験、発生工学、移植実験などに用いられ、さらには医薬品や化粧品の原材料としても利用されています。また、実験動物用飼料も動物種毎に揃えており、幅広く利用されています。

当社は業務内容上、実験動物と密接な関係があり、動物愛護の観点から、社内に実験動物委員会を設置し、管理規定、指針、マニュアル等を作成して、法令遵守の精神に沿った充分な管理を心がけています。

今後とも、皆様から信頼される製品の製造・販売、各種試験の実施に努めてまいりますので、ご愛顧のほどよろしくお願い申し上げます。

日本実験動物学会の動き

1. 第2回疾患モデルシンポジウムのご案内

第2回疾患モデルシンポジウムを以下の日程で開催いたします。奮ってご参加ください。

日　時：平成21年11月17日（火）13：30～17：00

場　所：弥生講堂（東京大学農学部）http://www.a.u-tokyo.ac.jp/yayoi/

テーマ：生殖細胞のなりたちから不妊治療の基礎まで

詳　細：学会ホームページをご参照ください。

http://wwwsoc.nii.ac.jp/jalas/meeting/modelsympo.html

参加費：無料

2. 平成21年維持会員懇談会の開催

本年度の維持会員懇談会の日程が以下の通り決定しました。

日時：平成21年11月18日（水）14：00～20：00　（懇親会を含む）

場所：タワーホール船堀（東京都江戸川区）http://www.towerhall.jp/

内容：学会ホームページをご参照ください。http://wwwsoc.nii.ac.jp/jalas/meeting/ijikai.html

2. 第57回日本実験動物学会総会

標記の総会が平成22年5月12日（水）～14日（金）の期間、芹川忠夫大会長のもと京都テルサで開催されます。奮ってご参加下さい。詳細につきましては第57回日本実験動物学会総会ホームページ（http://jalas57.adthree.com/）をご参照下さい。

日本実験動物技術者協会の動き

実技協本部

講習会等	期　日	場　所	テーマ
第22回日本動物実験代替法学会総会・学術大会（シンポジウム４）	H21.11.15	大阪大学吹田キャンパス銀杏会館（大阪府吹田市）	実験動物学関連学協会から見た動物実験代替法（シンポジスト派遣）

関東　支部

講習会等	期　日	場　所	テーマ
実験動物の取り扱い、実験手技および比較解剖	H21.11.12～14	慶應義塾大学医学部（東京都新宿区信濃町）	マウス、ラットの基本的な取扱い、投与、解剖など http://jaeat-kanto.adthree.com/ 参照
日本実験動物技術者協会関東支部総会第35回懇話会	H22.2.27	さいたま市民会館うらわ（埼玉県　さいたま市）	動物福祉の実践 特別講演、教育講演、シンポジウム、ポスター発表など http://jaeat-kanto.adthree.com/ 参照

関西　支部

講習会等	期　日	場　所	テーマ
第4回高度技術講習会（モルモット，ウサギ）	H21.10.3～4	神戸市内	実験動物一級技術者レベルの実技講習（(社)日本実験動物協会協賛）
第65回実験動物学習会（実技）	H21.11.14	大阪府内	実験動物二級技術者レベルの実技講習

詳細は、日本実験動物技術者協会のホームページ（http://jaeat.org/）を参照下さい。

■ 協会だより

本協会の「事務所移転」記念講演と披露パーティの開催

平成21年9月8日（火）に新事務所の披露並びに地域周辺の案内後、九段会館において記念学術講演会と披露パーティが下記の内容で開催されました。参加者は農林水産省の大野高志課長、日本実験動物協同組合の日栁理事長をはじめ約60名の関係者が参加されました。

1. 学術講演会　15:15～16:00
「人獣共通感染症と新型インフルエンザ」
山田章雄先生（国立感染症研究所獣医科学部部長）
2. 披露パーティ　16:15～18:00

平成21年度認定　実験動物技術指導員及び準指導員

指導員9名

名前	勤務先
加藤めぐみ	カルピス㈱
日髙　廣	㈱チャネルサイエンス
永井　勉	丸石製薬㈱
松浦 豊和	㈱中外医科学研究所
谷口 佳史	㈱ケー・エー・シー
田村 広明	日本エスエルシー㈱
平尾 雅郎	北山ラベス㈱
梅澤 一雄	（財）残留農薬研究所
中西 悟郎	㈱ケー・エー・シー

準指導員6名

名前	勤務先
五十嵐 修	日本エスエルシー㈱
山田 寛臣	北山ラベス㈱
鎌田　薫	三協ラボサービス㈱
黒瀬 美樹	㈱武田ラビックス
坂本 雄二	千寿製薬㈱
中根 史行	スギ生物科学研究所㈱

専門委員会等活動状況

委員会名等	開催月日	協議内容及び決定事項
第2回実験動物福祉調査・評価委員会	21.7.2	第2期実験動物生産施設等福祉調査について
第1回実験動物生産対策専門委員会	21.7.6	ミニブタの開発に関する要望書について
技術指導員の面接審査	21.7.7	協会会議室　6名面接
感染症の診断・予防実技研修	21.7.10～11	モニタリング研修会（実験動物中央研究所）
第2回モニタリング技術専門委員会	21.7.30	微生物モニタリングの実施要領-モルモット・ウサギ編-の改訂
実験動物2級技術者学科試験	21.8.23	全国13か所にて実施
第1回採点・合否判定委員会	21.9.1	実験動物2級技術者学科試験の合否
通信教育スクーリング（京都）	21.9.5～6	京都府立医科大学
「事務所移転」の記念講演と披露パーティ	21.9.8	九段会館
白河研修会	21.9.14～18	（独）家畜改良センター
第1回動物福祉専門委員会	21.9.16	実験動物の福祉に関する指針等の見直し
実験動物1級技術者学科試験	21.9.19	白河、東京、大阪、倉敷、宮崎にて実施
第2回採点・合否判定委員会	21.9.29	実験動物1級技術者学科試験の合否
第1回教育・認定専門委員会	21.9.29	教育セミナー等について
第3回情報専門委員会	21.9.30	「LABIO21」No.39号の企画について

行事予定

(1) 協会関係

行事	開催日	場所・内容
第2回請負派遣対策専門委員会	21.10.6	請負・派遣法について
第2回モニタリング技術専門委員会	21.10.20	日動協メニューについて
通信教育スクーリング（東京）	21.10.25～26	日本獣医生命科学大学
モルモット・ウサギ実技研修会（1級向）	21.10.25～26	日本獣医生命科学大学
実験動物2級技術者実技試験	21.11.28	日本獣医生命科学大学、京都府立医科大学
実験動物1級技術者実技試験	21.11.29	日本獣医生命科学大学
第3回採点・合否判定委員会	21.12.8	実験動物1級・2級技術者実技試験の合否
第2回教育・認定専門委員会	21.12.8	教育セミナー等について

3．関係協会団体行事

◆日本実験動物代替法学会22回大会
日時：2009年11月13〜15日
会場：大阪大学吹田キャンパス銀杏会館
会長：黒澤努

◆第27回九州実験動物研究会総会
日時：2009年11月14日
会場：熊本保健科学大学

◆第39回日本免疫学会総会・学術集会
日時：2009年12月2〜4日
会場：大阪国際会議場（グランキューブ大阪）

◆第2回疾患モデルシンポジウム
日時：2009年11月17日13:30から
会場：東京大学農学部弥生講堂
主催：日本実験動物学会

◆第38回日本環境変異原学会
日時：2009年11月26〜27日
会場：静岡　清水テルサ

4．海外行事

◆第60回National Meeting(AALAS）
日時：2009年11月8〜12日
会場：Denver,Colorado
詳細：http://www.nationalmeeting.aalas.org/

※ 関連団体の行事については出来るだけ多くの関係者に周知したいので、行事計画が決定した場合には事務局まで御連絡下さい。

30年前の話になるが「夏だ、海だ、ヨットだ」と衝動買いで、当時の給料の半年分を叩いてディンギー（小型ヨット）を購入した。京浜東北線 磯子駅付近にあるボートショップで2日間の講習付だった。講習初日、取扱説明書と睨めっこで艤装を施し、いざ海へ意気揚々と繰出した。大学生のコーチの教えも良く、風（KAZE）の掴み方、ラダー（舵）の取り方などで半日があっという間に経過した。一通り講習が終了し、自分で舵を操ることになった途端、艇は風に翻弄されるばかりで意思のある舵取りは出来ず、おまけにディンギーは容易に沈（引っくり返ること）するからと、自らの身体を使った対応の実技に至っては、体力を使い果たし海面から艇によじ登ることも出来ない惨憺たる有様だった。その一週間後、不安を抱いて最後の講習に臨んだ。なんと艇は風を掴み、波を切り風上へ向かってその船足を速めていった。艇を返却しようとまで思っていた事をすっかり忘れ、海の上で一日を過ごした。その後、艇を車の屋根に載せては各地の湖を巡って後､三浦海岸を足場として休日は海で過ごす生活を暫し送った。ディンギーを操船する上で、KAZE（風）とKAZI（舵）は密接な関係が成り立っている。LABIO21もこの業界のKAZE（風）をよく読み、読者諸氏のKAZI（舵）取りに役に立つ情報発信を心掛けて行きたいと思っている。　（河野公雄）

STAFF

情報専門委員会

担当理事	新関 治男	HARUO NIIZEKI
委員長	山田 章雄	AKIO YAMADA
委員	荒巻 正樹	MASAKI ARAMAKI
〃	大島誠之助	SEINOSUKE OHSHIMA
〃	河野 公雄	KIMIO KAWANO
〃	川本 英一	EIICHI KAWAMOTO
〃	木藤 実	MINORU KITOH
〃	日栁 政彦	MASAHIKO KUSANAGI
〃	久原 孝俊	TAKATOSHI KUHARA
〃	櫻井 康博	YASUHIRO SAKURAI
〃	椎橋 明広	AKIHIRO SHIIHASHI
事務局	前　理雄	MICHIO MAE
〃	関　武浩	TAKEHIRO SEKI
〃	工藤 慈晃	NARIAKI KUDO

制作　株式会社 ティ・ティ・アイ TTI

● LABIO 21 No.38　平成21年10月1日発行/ ● 発行所 社団法人日本実験動物協会/ ● 編集 情報専門委員会
● 住所 〒101-0051 東京都千代田区神田神保町3-2-5 九段ロイヤルビル5階/ ● TEL 03-5215-2231　FAX 03-5215-2232
● URL　http://www.nichidokyo.or.jp ● E-mail　jsla@nichidokyo.or.jp